

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Mint

Mentha spp. termasuk family Labiatae yang memiliki kandungan bahan aktif, aroma yang khas. Pada penggunaannya terdapat tiga jenis spesies yang terkenal, Tiga spesies ini antara lain: *Mentha arvensis* merupakan penghasil mentol dan minyak mentha Jepang, jenis kedua yaitu *Mentha piperita* yang menghasilkan minyak peppermint atau *true mint*, dan jenis ketiga ada *Mentha spicata* yang menghasilkan minyak *spearmint*, dengan pangsa pasar dunia masing-masing mencapai 75 %, 18 % dan 7 % (Priyadi, 2010).

Di Indonesia terdapat 6 jenis mentha yaitu *M. piperita*, *M. arvensis*, *M. spicata*, *M. crispa*, *M. canadensis* dan *M. viridis*. Minyak mentha yang paling banyak beredar dipasaran dunia ada 3 macam yaitu: *Peppermint* (minyak dari *M. piperita*), *cornmint* (minyak dari *M. arvensis*), dan *spearmint* (minyak dari *M. spicata*) dari ketiga jenis minyak tersebut yang besar kemungkinan dikembangkan di Indonesia adalah minyak *cornmint* yang berasal dari *M. arvensis* karena jenis ini tidak memerlukan panjang hari lebih dari 12 jam untuk berbunga. Berbunganya tanaman (60-70% dari populasi tanaman) merupakan indikator saat panen yang tepat (Hadipoentyanti, 2012).

M. arvensis var. *Javanica* merupakan jenis asli Indonesia dari Jawa, tetapi jenis ini tidak mempunyai nilai komersial karena kadar minyak dan mentholnya sangat rendah. Ciri morfologi varietas ini adalah habitus tanaman tegak, tinggi tanaman sekitar 30-60 cm, mempunyai stolon yang panjang menjalar di atas tanah.

Daun berukuran 2,5-7 cm x 1-3 cm, ujung daun runcing (*acutus*), permukaan daun bagian atas berbulu dan permukaan bagian bawah licin. panjang tangkai daun 0,5-1 cm. Bunga mempunyai daun penumpu, panjangnya 2-4 mm. Panjang tangkai bunga 2-2,2 cm, daun kelopak berukuran 2-2,5 mm, dan panjang mahkota bunga sekitar 4,5-5 mm.

Mentha arvensis var. Javanica merupakan varietas asli Indonesia yang pertumbuhannya tegak dan rimbun. *M. arvensis var. Javanica*, tersebar di Sri Lanka, semenanjung Malaya, Sumatera, Jawa (Jawa Barat dan Jawa Tengah), Sulawesi, Filipina dan Maluku di daerah lembab dan terbuka (Hadipoentyanti, 2012). Tanaman *M. arvensis* merupakan tanaman herba tahunan yang berbatang tegak atau sedikit menjalar dengan tinggi tanaman berkisar 30,5 - 98,5 cm, mempunyai percabangan simpodial, berbentuk segi empat, tekstur permukaan licin atau sedikit berbulu, dan berwarna hijau keunguan. Panjang daun berkisar 1,3 – 6,5 cm dengan lebar 1- 3,2 cm, berbentuk lanset (*laceolate*) sampai setengah bundar (*suborbicular*), Ujung daun runcing (*acute*) sampai segitiga tumpul (*obtuse*). Tepi daun beringgit dangkal (*Creneate*) atau bergerigi (*Serrate*), tangkai daun berbulu, pangkal daun menyempit berbentuk pasak (*Cuncate*) sampai bundar (*rounded*). Letak daun berseling berhadapan (Hadipoentyanti, 2012).



Gambar 1. Tanaman Mint *Mentha arvensis* L.
(Hadipoentyanti, 2012)

Kebanyakan *Mentha arvensis* bisa tumbuh dengan baik pada suhu dingin, dan dapat tumbuh juga di daerah tropis. Pada daerah tropis daun mint dapat tumbuh, namun tidak berbunga berbeda dengan pada pegunungan yang dapat tumbuh dengan baik pada ketinggian 150-1200 mdpl (de Padua, dkk., 1999). Habitusnya berupa terna dengan tinggi sekitar 30-50cm. Batangnya lunak berbulu, bentuk daun bulat telur, bergerigi, menyirip, berwarna hijau. Bunganya berwarna ungu (de Padua, dkk., 1999). *Mentha arvensis* termasuk suku Lamiaceae, yang anggotanya terdiri atas 25 jenis. Klasifikasi *Mentha arvensis* terlihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Klasifikasi Tanaman Mint (*Mentha arvensis*)

Devisi	Magnoliophyta
Sub Devisi	Angiospermae
Kelas	Dicotyledonae
Ordo	Tubiflorae
Famili	Lamiaceae/Labiatae
Sub Famili	Lamioideae
Genus	Mentha
Species	<i>Mentha arvensis</i> L.

(Sumber: Hadipoentyanti, 2012)

Tanaman mint merupakan salah satu tanaman herbal tertua di dunia. Daun mint mengandung minyak essential seperti mentol dan menton serta senyawa flavonoid, asam fenolik, triterpenes, vitamin C, provitamin A, dan beberapa mineral fosfor, besi, kalsium, serta potassium (Sastrohamidjojo, 2004). Serta Menurut Raghavendra, dkk., (2008) dan Zakaria, dkk., (2008), yang dalam penelitiannya menyatakan bahwa *Mentha arvensis* memiliki aktivitas antioksidan yang cukup tinggi sehingga dapat dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan untuk penghambatan radikal bebas. Menurut Do Nascimento, dkk., (2009), dari hasil penelitiannya yang berjudul “Phytochemical Prospection, Toxicity and Antimicrobial Activity of *Mentha arvensis* (Labiatae) from Northeast of Brazil” diperoleh *screening* fitokimia dari *Mentha arvensis* yang terlihat pada Tabel 2.

Tabel 2 *Screening* fitokimia pada *Menta Arvensis*

Metabolit Sekunder	Hasil
Tannins	Positif
Flavones	Positif
Flavonol	Positif
Xantones	Positif
Flavononols	Positif
Flavonones	Positif
Alkaloids	Negatif
Steroids	Negatif
Triterpenes	Negatif

(Do Nascimento, dkk., 2009)

Tanaman mint (*Mentha arvensis* L.) memiliki komponen kimia yang berbeda-beda dalam jumlah besar seperti *α-menthol*, *neomenthol*, *menthofuran*, *d-menthone*, *isomenthol*, *isomnethone*, *menthylacetate*, *cineol*, *phellandrene*, *p-cymene*, *aromadendrene*, *limonine*, *piperitone*, *carvomenthone*, *pinene*, *carvacrol*, *α-pinene*, *α-phellandrene*, *dipentene*, *cadinene*, *thujone*, *menthofuran*, *carvone*, *linalool*. Senyawa-senyawa tersebut digunakan dalam bidang farmasi, makanan, perasa, kosmetik, dan diaplikasikan pula pada sebagian besar bidang industri (Ghani, 2003; Satyavati, dkk., 1987; *Council of Scientific and Industrial Research*, 1972; dan Verma, dkk., 2010). Senyawa spesifik dari daun mint dan minyak daun mint memiliki kandungan Amyl alcohol, methyl esters, limonene, β -phellandrene, cadinene, dimethyl sulphide, dan sedikit α -pinene, sabinene, terpinolene, transcimene, g-terpinene, fenchene, α -thujone, β -thujone, citronellol dan luteolin-7-O-rutinoside (Rastogi, dkk., 1990).

Pada daun mint juga mengandung senyawa spesifik antara lain: *flavonoid* seperti *quercetin*, *menthoside*, dan *isorhoifolin*, *vitamin K*, *eugenol*, dan *thymol* (Styavati, dkk., 1987). Berdasarkan beberapa penelitian pula, daun mint memiliki kandungan 90% mint oil. Minyak dari daun mint (*mint oil*) memiliki kandungan *monoterpenes* (*menthone*, *menthonefuran*, *methyl acetate cineole* dan *limonene*), *sesquiterpenes* (*viridiflorol*), *flavonoid* (*luteolin*, *methoside*, *isorhoifolin*, *rutin* *hesperidin*), *Phenolic acids* (*ceffeic acid*, *chlorogenic* dan *rosmarinic*), *tripenes* (*squalene*, *a-amyrin*, *urosolic acid* dan *sitosterol*), *phytol*, *tocopherol*, *carotenoids*, *choline*, *betaine*, *cyclenes*, *rosmarinic acid*, *tannin* dan mineral (Oinen, dkk., 2006; *Institute for Medical Research, Herbal Medical Research Centre*, 2002; dan Rajesh, dkk., 2013). Dan baru-baru ini, *Linarin* (*acacetin-7-O-β-D-rutinoside*) yang

diperoleh dari ekstrak bunga dari tanaman mint (*Mentha arvensis* L.) (Oinen, dkk., 2006).

Cineole adalah sebuah konstituen penting dari ekstrak mint, mengurangi kerusakan mukosa lambung yang diinduksi etanol pada tikus. Dalam penelitian ini telah menunjukkan bahwa aktivitas ini disebabkan oleh antioksidan, penghambatan lipoksigenase dan kapasitas untuk mengembalikan sulfhidril non-protein ke tingkat normal oleh senyawa uji (Santos, 2004 dalam Thawkar, dkk., 2016). *Cineole*, *eugenol*, dan *timol*, yang ada dalam mint dilaporkan sebagai antioksidan yang baik dan menghambat peroksidasi lipid. Flavonoid seperti *quercetin*, yang ada dalam mint telah dilaporkan untuk mengais radikal bebas OH dan superoksida dan juga menghambat peroksidasi lemak. (Korkina, dkk., 1997, dan Shimoi, dkk.,1994 dalam Thawkar, dkk., 2016).

Pada pengujian ekstrak etanolik daun mint (*Mentha arvensis* L.) dengan menggunakan uji *in vitro* aktifitas antioksidan (*DPPH free radical scavenging activity*) bahwa pada TLC, berdasarkan pengujian kualitatif antioksidan dengan menggunakan DPPH, ekstrak menunjukkan penangkalan radikal bebas yang diindikasikan pada warna kuning pada background ungu pada TLC plate (data tidak ditunjukkan). Tetapi pada pengujian secara kuantitatif, ekstrak menunjukkan aktivitas penangkalan radikal bebas pada pengujian DPPH (Pada kisaran $IC_{50}= 41\mu\text{g/ml}$) yang sebanding dengan *ascorbic acid* (asam askorbat) (Pada kisaran $IC_{50}= 19\mu\text{g/ml}$) yang diketahui sebagai standar antioksidan (Biswas, dkk., 2014).

B. Permen Jelly

Permen *Jelly* adalah makanan berbentuk semi padat, yang sangat disukai dan dikenal oleh masyarakat karena memiliki beraneka macam rasa dan juga segar

dan manis. Permen *jelly* tergolong sebagai pangan semi basah. yang bertekstur lunak yang diolah dengan satu atau lebih perlakuan, yang cara pengkonsumsian praktis serta penyimpanan yang awet tanpa adanya tambahan perlakuan penyimpanan (tanpa suhu penyimpanan tertentu). Tetapi dalam proses pembuatannya dilakukan suatu settingan pada formula sehingga produk permen *jelly* dapat awet. Penyetingan formula tersebut meliputi kondisi pH, senyawa aditif dan terutama aw yang berkisar antara 0.6 sampai 0.85 (diukur pada suhu 25°C) (Pomeranz dan Meloan, 1997).

Syarat penting bahan baku dalam pembuatan permen *jelly* antara lain: pektin, gula (sukrosa), asam, pengental dan sari buah atau sayur. Selain itu permen *jelly* juga mempunyai rasa dan aroma kembang gula. Pada permen *jelly* digunakan Sukrosa bertujuan sebagai pemanis dan juga pengawet karena konsentrasi penggunaan gula yang cukup tinggi sehingga dapat menurunkan aktivitas air dari bahan yang mengakibatkan mikroorganisme dalam bahan sulit untuk bertahan hidup yang akan berdampak pada masa simpan produk permen *jelly*. Penambahan sedikit asam sitrat bertujuan sebagai pemberi rasa asam dan mencegah kristalisasi gula. Selain itu asam sitrat memiliki fungsi sebagai katalisator hidrolisa sukrosa ke bentuk gula invert selama penyimpanan serta penjernih gel. Banyaknya asam sitrat yang digunakan dalam permen *jelly* berkisar 0,2-0,3 % (Margono, 1997).

Gelatin dalam permen *jelly* berfungsi dalam tingkatan tekstur kekenyalan produk permen *jelly*. Terbentuknya tekstur kenyal dalam permen *jelly* disebabkan karena sifat khas dari gelatin itu sendiri, yaitu dapat berubah secara *reversible* dari bentuk sol (koloid) ke bentuk gel, dan mengembang dalam air dingin, serta mampu membentuk film serta mempengaruhi viskositas suatu bahan (Rahcmania, dkk.,

2013). Saat serbuk gelatin direndam pada air dingin, gelatin akan terhidrasi menjadi terpisah membentuk partikel-partikel yang mengembang, dan saat direndam dalam air hangat, partikel-partikel yang mengembang akan terlarut menjadi suatu larutan (GMIA, 2012).

Pada penelitian ini digunakan pula tepung konjak yang diganti dengan penggunaan nutrijell (komposisi dalam nutrijel mengandung tepung konjak dan karagenan tetapi lebih sedikit). Menurut Yulianingsih (2005) karagenan memiliki sebagai stabilisator, bahan pengental, dan pembentuk gel. Karagenan mampu memperbaiki tekstur dalam permen jelly dan kekenyalan produk permen jelly. Penggunaan karagenan juga mempengaruhi daya iris produk permen jelly dan melindungi permen jelly dari pembekuan.

Tepung konjak sendiri dipergunakan dalam permen jelly karena dalam tepung konjak terdapat glukoman. Glukoman yang berfungsi sebagai bahan pembentuk gel memiliki kemampuan yang cukup unik untuk membentuk *reversible gel* dan *irreversible gel* pada kondisi yang berbeda. Glukoman tidak akan membentuk gel jika gugus asetilnya mencegah rantai panjang untuk bertemu satu sama lain. Tetapi, glukoman dapat membentuk gel dengan pemanasan 85 °C dalam kondisi basa. Gel ini bersifat tahan panas dan tetap stabil pada suhu pemanasan ulang hingga suhu 100 °C atau bahkan sampai 200 °C, sedangkan *irreversible gel* dapat diperoleh dengan campuran glukoman bersamaan dengan karagenan. Dengan adanya gelatin dan tepung konjak (*nutrijell*), maka gel terbentuk semakin cepat dan kuat, karena masing-masing hidrokoloid mempunyai kemampuan pembentuk gel. Gel yang kokoh akan mengikat air dengan kuat sehingga Aw permen jelly juga akan semakin rendah (Dewantoro dan Purnomo, 2009).

C. Antioksidan dan Teknik Pengukurannya

Radikal bebas adalah salah satu bentuk senyawa oksigen reaktif, yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital luarnya. Elektron yang tidak berpasangan tersebut dapat menyebabkan senyawa tersebut sangat reaktif dalam mencari pasangan dengan cara menyerang dan mengikat elektron yang berada di sekitarnya. Saat elektron yang terikat oleh senyawa radikal bebas tersebut bersifat ionik, dampak yang ditimbulkan tidak begitu berbahaya. Bila elektron yang terikat pada radikal bebas dan berasal dari senyawa yang berikatan kovalen, menimbulkan dampak yang sangat berbahaya karena ikatan yang digunakan secara bersama-sama pada orbital terluarnya. Umumnya, senyawa yang memiliki ikatan kovalen adalah molekul-molekul besar (biomakromolekul), seperti lipid, protein, maupun DNA (Winarsi, 2007).

Target utama radikal bebas adalah protein, asam lemak tak jenuh dan lipoprotein, serta unsur DNA termasuk karbohidrat. Salah satu yang paling rentan terhadap serangan radikal bebas adalah Asam lemak tak jenuh. Senyawa radikal bebas yang terdapat dalam tubuh dapat merusak asam lemak ganda pada membran sel. Hal ini berakibat pada dinding sel menjadi rapuh. Senyawa oksigen reaktif ini juga dapat merusak bagian dalam pembuluh darah sehingga meningkatkan pengendapan kolesterol dan menimbulkan aterosklerosis. Senyawa radikal bebas ini juga memiliki potensi merusak basa DNA sehingga terjadi kerusakan pada sistem info genetika, dan berlanjut pada pembentukan sel kanker (Winarsi, 2007).

Salah satu senyawa yang dapat menghambat serangan radikal bebas tersebut ialah senyawa antioksidan yang merupakan senyawa pemberi elektron (*elektron donor*) atau reduktan. Senyawa ini memiliki berat molekul kecil, tetapi mampu

menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif yang dapat menghambat kerusakan sel. Cara senyawa antioksidan menghambat reaktivitas radikal bebas dengan 3 cara berikut: mencegah atau menghambat pembentukan radikal bebas baru, kedua, menginaktivasi atau menangkap radikal dan memotong propagasi (pemutusan rantai), ketiga, memperbaiki (*repair*) kerusakan oleh radikal (Winarsi, 2007).

Antioksidan dapat berupa enzimatis dan non-enzimatis. Antioksidan enzimatis adalah sistem pertahanan utama terhadap stress oksidatif. Antioksidan enzimatis dapat bekerja dengan mencegah terbentuknya senyawa radikal bebas baru. Contoh dari antioksidan berupa enzim seperti superoksida dismutase atau SOD, katalase, dan glutathion peroksidase. Sedangkan antioksidan non-enzimatis yang berupa senyawa nutrisi maupun non-nutrisi, contohnya, vitamin (vitamin E, C, A, dan β -karoten), dan senyawa lain misalnya flavonoid, albumin, bilirubin, seruloplasmin, dan lain-lain (Winarsi, 2007). Antioksidan non-enzimatis memiliki fungsi menangkap senyawa oksidan serta mencegah terjadinya reaksi berantai. (Winarsi, 2007).

Ekstrak merupakan sediaan pekat yang didapatkan dengan cara mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut yang sesuai dan diuapkan hingga seluruh atau hampir seluruh pelarut menguap serta massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Direktorat POM, 1995). Ekstraksi dilakukan berdasarkan tekstur, kandungan air simplisia, dan jenis senyawa yang akan diisolasi (Harborne, 1987).

Teknik-teknik ekstraksi dibagi menjadi dua jenis antara lain ekstraksi panas dan ekstraksi dingin. Salah satu metode yang dilakukan pada penelitian ini adalah

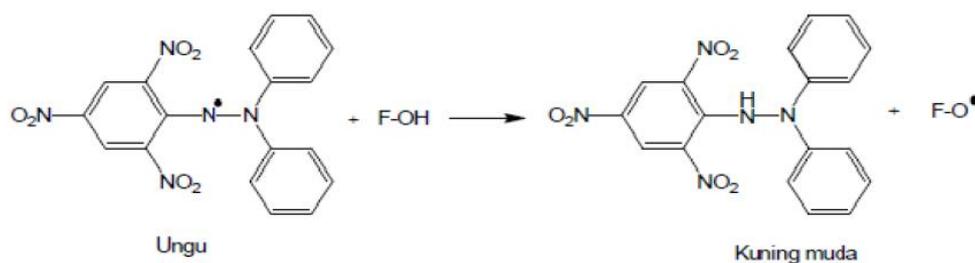
dengan menggunakan ekstraksi dingin. Salah satu ekstraksi dingin yang digunakan adalah metode maserasi. Maserasi merupakan proses ekstraksi simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada suhu ruang. Maserasi termasuk ekstraksi dengan prinsip pencapaian kesetimbangan konsentrasi (Depkes, 2000).

Sebelum pengujian aktivitas antioksidan digunakan uji pendahuluan berupa analisis kandungan total fenol. Analisis total fenol dilakukan untuk mengetahui potensi senyawa-senyawa yang ada dalam permen jelly daun mint yang berfungsi sebagai senyawa penangkal radikal bebas dan penstabil oksigen singlet (Ramle, dkk., 2008). Besarnya kandungan total fenol ditentukan dengan persamaan kurva standar asam galat. Asam galat digunakan sebagai standar karena senyawa ini sangat efektif untuk membentuk senyawa kompleks dengan reagen *Folin-Ciocalteu* sehingga reaksi yang terjadi lebih sensitif dan intensif (Kiay, dkk., 2011). Kandungan total fenol dinyatakan sebagai *Gallic Acid Equivalent* (GAE) atau ekuivalen asam galat (Mongkolship dkk., 2014).

Reaksi positif dari uji kandungan total fenolik adalah saat ditetesi Na_2CO_3 , warna larutan akan berubah dari kuning menjadi biru. Intensitas warna biru tersebut ditentukan oleh banyaknya kandungan fenol dalam larutan sampel karena dengan melihat kadar kepekatan warna biru yang terbentuk dapat diketahui seberapa besar kandungan fenol yang terkandung dalam larutan sampel (Ismail dkk., 2012).

Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikril hidrazil) adalah salah satu metode yang paling sering dilakukan sebagai metode pengujian antioksidan pada ekstrak tanaman (Shivaprasad, dkk., 2005). Metode DPPH merupakan metode yang sederhana, cepat, sensitif, dan reproduibel untuk pengujian aktivitas antioksidan

(Savatovic, dkk., 2012). Mekanisme penangkapan radikal DPPH oleh antioksidan cukup sederhana yaitu dengan cara pemberian elektron kepada radikal bebas. Oleh karena itu, senyawa- senyawa yang memungkinkan memberikan elektron memiliki aktivitas penangkapan radikal cukup kuat. Interaksi antioksidan dengan DPPH secara transfer elektron atau radikal hidrogen pada DPPH, akan menetralkan karakter radikal bebas dari DPPH. Saat semua elektron pada radikal bebas DPPH menjadi berpasangan, maka terjadi perubahan warna larutan yang awalnya menjadi ungu tua menjadi warna kuning terang yang dapat ditera pada panjang gelombang 517 nm (Winarsi, 2007).



Gambar 2. Transfer Radikal Hidrogen dari antioksidan ke radikal DPPH.
(Windono, dkk., 2004)

Aktivitas antioksidan merupakan kemampuan suatu senyawa atau ekstrak untuk menghambat reaksi oksidasi yang dapat dinyatakan dengan persen penghambatan. Parameter yang digunakan untuk menunjukkan aktivitas antioksidan adalah harga konsentrasi efisien atau *efficient concentration* (EC_{50}) atau *Inhibition Concentration* (IC_{50}) yaitu konsentrasi suatu zat antioksidan 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 (Andarwulan,dkk, 1996).

IC_{50} ditentukan dengan menggunakan persamaan dari kurva standar dari % inhibisi sebagai sumbu y dan konsentrasi fraksi antioksidan sebagai sumbu x. IC_{50} dihitung dengan cara memasukkan nilai 50% ke dalam persamaan kurva standar sebagai sumbu y lalu dihitung nilai x sebagai konsentrasi IC_{50} . Semakin kecil nilai IC_{50} tersebut artinya semakin tinggi aktivitas antioksidannya. Dalam hal ini diharapkan bahwa radikal bebas dapat ditangkap oleh senyawa antioksidan hanya dengan konsentrasi yang kecil (Molyneux, 2004).

D. Hipotesis

1. Adanya aktifitas antioksidan pada produk permen jelly daun mint (*Mentha arvensis* L.) yang ditunjukkan dengan nilai IC_{50} .
2. Adanya perbedaan aktifitas antioksidan yang signifikan pada permen jelly daun mint (*Mentha arvensis* L.) pada berbagai variasi konsentrasi ekstrak daun mint.