

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### A. Rumput Mutiara (*Oldenlandia corymbosa*)

*Oldenlandia corymbosa* yang terkenal dengan nama rumput mutiara memiliki sinonim yaitu *Hedyotis corymbosa* adalah jenis tanaman yang dapat tumbuh pada daerah tepi jalan ataupun tanah yang tidak dimanfaatkan (Sirait, 2014), sehingga tanaman ini sering diabaikan dan dianggap sebagai tanaman pengganggu atau gulma (Sitawati, 2010). Sering dianggap sebagai gulma, ternyata tanaman *O. corymbosa* merupakan salah satu jenis tanaman yang memiliki keunggulan yaitu mampu digunakan sebagai obat kanker, seperti pemanfaatan tanaman ini yang dilakukan di Cina, India dan Asia Tenggara. Selain untuk obat kanker, tanaman ini juga dapat digunakan untuk penyembuhan radang, antidiuretik, menurunkan demam, radang usus buntu, melancarkan sirkulasi darah, hepatitis dan infeksi saluran kemih (Sirait, 2014). Pemanfaatan *Oldenlandia corymbosa* ini sebagai obat dapat dilakukan pada semua bagian tanaman, seperti daun, batang dan akar (Wijayanti, 2017).

*Oldenlandia corymbosa* memiliki beberapa nama daerah. Secara umum, di Indonesia tanaman ini dikenal dengan nama telur belungkas, lidah ular atau rumput siku-siku, secara lokal di Jakarta dikenal dengan nama rumput mutiara, daerah Jawa dikenal dengan nama katepan dan urek-urek polo, daerah Makassar dikenal dengan nama pengka serta *shui xian cao* untuk daerah Cina (Dalimartha, 2008). Klasifikasi rumput mutiara adalah sebagai berikut (Moore dkk., 2018):

Kerajaan : Plantae  
Divisi : Magnoliophyta  
Kelas : Magnoliopsida  
Bangsa : Rubiales  
Suku : Rubiaceae  
Marga : *Oldenlandia*  
Jenis : *Oldenlandia corymbosa*  
: *Hedyotis corymbosa* (sinonim)  
Sumber : Moore dkk., 2018

*Oldenlandia corymbosa* merupakan herba yang tumbuh lebat berserakan (Sirait, 2014) dengan tinggi tanaman antara 5 sampai 60 cm. Tanaman ini bersifat tahunan, ramping dan tegak (Soerjani dkk., 1987). Tanaman *O. corymbosa* memiliki daun tunggal yang kecil dengan panjang 1 sampai 3 cm dan lebar 1,5 sampai 5 mm, berhadapan-bersilang, berbentuk lanset dengan ujung dan pangkal daun runcing, tepi daun rata, permukaan bawah daun berwarna keabu-abuan (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995), permukaan atas berwarna hijau gelap dan memiliki sistolit (Soerjani dkk., 1987). Batang tanaman ini berbentuk persegi empat dengan ketebalan batang 1 mm, bercabang, berwarna hijau kecoklatan sampai hijau keabu-abuan (Soerjani dkk., 1987).

Bunga tanaman *O. corymbosa* adalah biseksual, aktinomorf, *axillary*, memiliki kelopak yang mengandung sistolit dan mahkota berwarna putih atau ungu pucat. Tanaman ini juga memiliki banyak biji berbentuk lonjong dengan permukaan berurat jala dan berwarna coklat (Soerjani dkk., 1987). Buah dari tanaman ini memiliki panjang 1,75 sampai 2 mm dengan lebar 2 sampai 2,5 mm dan terdapat sisa kelopak berupa tonjolan kecil runcing pada permukaan luar di bagian ujung (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995).

Penampakan segar dari tanaman *Oldenlandia corymbosa* dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Penampakan daun dan bunga segar tanaman rumput mutiara (*Oldenlandia corymbosa*) (Sumber: Wunderlin dkk., 2018).

### **B. Senyawa Metabolit Sekunder Rumput Mutiara (*O. corymbosa*)**

Tanaman rumput mutiara (*Oldenlandia corymbosa*) dalam bentuk serbuk diuji fitokimia dan didapatkan hasil bahwa mengandung senyawa metabolit sekunder golongan alkaloid, flavonoid, steroid dan triterpenoid serta tanin (Seniwaty dkk., 2009). Ekstrak metanol yang diuji fitokimia menunjukkan bahwa mengandung senyawa metabolit sekunder golongan alkaloid, steroid, tanin dan saponin (Mery, 2018). Ekstrak pekat etanol dari *O. corymbosa* yang diuji fitokimia memiliki hasil positif mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, steroid dan tanin (Alawiyah, 2007).

Tanaman rumput mutiara juga mengandung asam ursolat dan asam ulenolat yang merupakan senyawa aktif dengan kemampuan mencegah keganasan pembelahan sel kanker (Sitawati, 2010). Ekstrak pekat *O. corymbosa* yang diuji dengan bantuan GC-MS didapatkan 20 senyawa yang terdeteksi. Terdapat tiga senyawa dengan komposisi tertinggi secara berturut-turut yaitu asam galat sebanyak 18,583 %, katekin sebanyak 16,6165 % dan

geraniol sebanyak 12,876 % (Wijayanti, 2017). Dua senyawa dengan komposisi tertinggi yaitu asam galat dan katekin memiliki beberapa fungsi yang salah satunya adalah antioksidan (Kim, 2007; Higdon dan Frei, 2003).

Selain ketiga senyawa dengan komposisi tertinggi di atas, terdapat 17 senyawa yang juga terkandung dalam ekstrak tanaman *O. corymbosa*. Tujuhbelas senyawa tersebut merupakan kelompok minyak atsiri yang juga memiliki beragam fungsi pengobatan, sehingga tanaman ini berpotensi obat secara herbal. Tujuhbelas jenis senyawa minyak atsiri yang terkandung dalam tanaman *O. corymbosa* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan Minyak Atsiri Tanaman *Oldenlandia corymbosa* dengan bantuan GCMS

Senyawa	Komposisi (%)	Sifat Kepolaran
<i>Kaempferol</i>	8,620	Semipolar
<i>Catechol</i>	7,239	Semipolar
<i>Betulinic acid</i>	4,761	Nonpolar
<i>Citrenellol</i>	4,719	Semipolar
<i>Limonene</i>	4,319	Nonpolar
<i>Cineole</i>	3,755	Nonpolar
<i>Camphene</i>	3,559	Semipolar
<i><math>\alpha</math> saline</i>	3,030	Polar
<i>Luteolin</i>	1,778	Nonpolar
<i><math>\beta</math> farnesene</i>	1,731	Semipolar-Polar
<i>Apigenin</i>	1,726	Polar
<i><math>\beta</math> caryophyllene</i>	1,428	Nonpolar
<i>Pinene</i>	1,425	Nonpolar
<i>Myrcene</i>	1,247	Nonpolar
<i><math>\beta</math> elemene</i>	1,203	Nonpolar
<i>Ascorbic acid</i>	0,910	Polar
<i>Camphor</i>	0,474	Polar

Sumber : Wijayanti, 2017; Rai dkk., 2012; Departments of the Army and the Air Force, 1953; Dugo dan Mondello, 2011; Kontominas, 2012; Rahman, 2019.

### C. Metode Ekstraksi Rumput Mutiara (*O. corymbosa*)

Penghalusan adalah cara yang dilakukan pada simplisia (bahan kering) untuk memperkecil ukuran bahan dan memperbesar luas permukaan secara mekanik (Salamah dkk., 2017). Penghalusan simplisia merupakan proses awal untuk pembuatan ekstrak (Balai Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia, 2012). Simplisia yang akan digunakan untuk ekstraksi sebaiknya dalam bentuk serbuk karena dapat memperbesar luas permukaan yang mengalami kontak dengan pelarut sehingga mempermudah masuknya pelarut ke dalam serbuk dan mengeluarkan senyawa kimia yang terkandung dalam bahan. Keluarnya senyawa kimia dari dalam serbuk kemudian akan bercampur dengan pelarut yang digunakan agar proses penyarian dapat berlangsung efektif (Andriyani dkk., 2010).

Ekstraksi merupakan suatu proses untuk memisahkan kandungan kimia pada bahan atau simplisia dengan cara memilih pelarut yang sesuai (Mukhriani, 2014; Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995). Ketika melakukan ekstraksi, prinsip yang harus dilaksanakan adalah *like dissolves like*, yang berarti memiliki kesamaan antara polaritas senyawa yang akan dilarutkan atau diekstraksi dengan polaritas dari pelarut yang digunakan untuk melarutkan senyawa (Suryani dkk., 2016). Pelarut yang dipilih ketika melakukan ekstraksi umumnya merupakan pelarut yang dapat menembus membran *double layer* pada sel tumbuhan, sehingga metabolit yang terdapat dalam sel dapat berdifusi keluar dengan efektif (Arifin, 2016).

Ekstrak merupakan hasil dari penyarian yang dilakukan pada simplisia, yang berasal dari tanaman maupun hewani dengan prosedur atau langkah yang tepat tanpa adanya pengaruh matahari (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995). Alasan terhindar dari sinar matahari karena sinar ultraviolet dapat mengakibatkan adanya malfungsi pada kandungan kimia bahan yang digunakan sehingga mengurangi kualitas ekstrak yang akan dihasilkan (Winangsih dkk., 2013). Ekstrak memiliki bentuk sediaan yang beragam, seperti kering, kental ataupun cair (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995).

Terdapat dua metode yang digunakan untuk membandingkan hasil, sehingga dapat diketahui hasil optimum yang mengandung senyawa antioksidan, yaitu:

### **1. Maserasi**

Maserasi merupakan metode yang umum digunakan untuk melakukan ekstraksi suatu senyawa ialah maserasi. Maserasi ialah suatu proses ekstraksi suatu bahan yang sudah dikeringkan terlebih dahulu dengan adanya penambahan pelarut dan pengadukan pada suhu 25-27 °C. Penambahan pelarut dilakukan sampai keseluruhan bahan terendam, sehingga terjadi pelunakan sel tanaman yang menyebabkan keluarnya senyawa-senyawa metabolit yang terkandung (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000; Salamah dkk., 2017).

Maserasi dilakukan dengan rentang waktu 4-10 hari, namun umumnya maserasi digunakan selama 5 hari, karena setelah waktu tersebut

dimungkinkan sudah terjadi keseimbangan konsentrasi pada bagian dalam dan luar dari bahan. Apabila terjadi keseimbangan konsentrasi, maka proses difusi atau penarikan senyawa metabolit oleh pelarut berakhir. Hal ini dikarenakan proses penarikan senyawa metabolit oleh pelarut disebabkan karena adanya perbedaan konsentrasi. Semakin besar perbandingan antara sampel dengan pelarut, maka senyawa yang dapat terekstrak juga semakin besar (Istiqomah, 2013; Pratiwi, 2010).

Penggunaan metode maserasi bertujuan untuk menarik senyawa-senyawa metabolit yang tahan maupun tidak tahan terhadap pemanasan (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000). Metode ini memiliki beberapa kekurangan yaitu proses ekstraksi berjalan lambat, menghasilkan rendemen yang rendah dan jika penggunaan suhu di atas 40 °C dapat mempercepat proses oksidasi pada senyawa antioksidan yang menyebabkan kerusakan senyawa sehingga mengurangi kemampuan senyawa tersebut dalam menangkap radikal bebas (Sholihah dkk., 2017). Keuntungan dari metode maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana (Agoes, 2007).

## **2. Sonikasi**

*Ultrasonic-assisted extraction* (UAE) merupakan salah satu metode yang digunakan untuk ekstraksi senyawa yang terkandung dalam bahan dengan bantuan gelombang ultrasonik. Gelombang ultrasonik merupakan gelombang dengan frekuensi tinggi (di atas pendengaran manusia) yaitu 20 kHz - 10 MHz (Sholihah dkk., 2017; Triani, 2011).

Reaksi yang terjadi ketika melakukan ekstraksi berbasis gelombang ultrasonik adalah fisik dengan pemecahan sel dan kimia ketika terjadi penarikan senyawa kimia (Triani, 2011).

Gelombang ultrasonik yang digunakan pada metode ini adalah longitudinal yang dapat menyebabkan terjadinya kavitasi. Kavitasi merupakan peristiwa terbentuknya gelembung gas. Gelembung gas yang terbentuk akibat adanya ekspansi dan kompresi secara berkelanjutan (Machado dkk., 2019; Triani, 2011).

Prinsip kerja dari metode ekstraksi berbasis gelombang ultrasonik adalah pemecahan dinding sel yang disebabkan adanya gelembung gas yang mudah pecah akibat fenomena kavitasi. Adanya pemecahan dinding sel menyebabkan kontak antara pelarut dengan sampel meningkat, sehingga senyawa yang terekstraksi lebih banyak (Sumere dkk., 2018; Wen dkk., 2018; Handaratri dan Yuniarti, 2019). Keuntungan dari metode ini adalah menghasilkan rendemen yang lebih banyak hingga 20 % dibandingkan metode maserasi, waktu yang relatif singkat (sekitar 45 menit) dan dapat mencegah hilangnya senyawa yang memiliki titik didih rendah (Sholihah dkk., 2017; Falleh dkk., 2012).

#### **D. Fitokimia Kualitatif dan Kuantitatif**

Uji fitokimia merupakan salah satu uji yang digunakan untuk mendeteksi atau mengevaluasi kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam tanaman. Hasil dari uji fitokimia akan digunakan dalam uji lanjutan untuk mengetahui secara pasti manfaat farmakologi dari tanaman yang diuji. Uji fitokimia terbagi

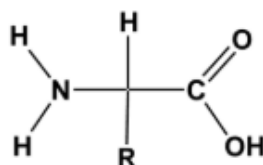


menjadi dua jenis, yaitu uji fitokimia secara kualitatif maupun secara kuantitatif (Dash, 2016; Syafitri dkk., 2014; Egbuna dkk., 2019).

Uji fitokimia kualitatif merupakan uji untuk mengetahui ada atau tidaknya suatu jenis senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam sampel uji. Uji fitokimia kuantitatif merupakan uji yang dilakukan untuk mengetahui konsentrasi suatu jenis senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam sampel uji (Egbuna dkk., 2019). Golongan senyawa yang diuji secara kualitatif adalah senyawa alkaloid, saponin, flavonoid, steroid, triterpenoid dan tanin, sedangkan golongan senyawa yang akan diuji secara kuantitatif adalah flavonoid dan fenolik. Reaksi-reaksi yang terjadi antara senyawa yang terkandung dalam sampel uji dengan reagen dapat dijelaskan sebagai berikut:

### 1. Alkaloid

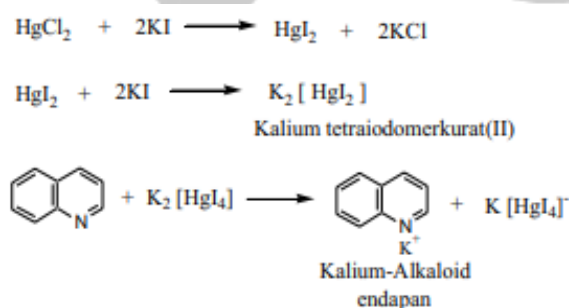
Alkaloid merupakan golongan senyawa yang tersebar luas di alam terutama terdapat dalam tumbuh-tumbuhan. Senyawa ini merupakan salah satu jenis senyawa metabolit sekunder yang merupakan turunan dari asam amino. Alkaloid merupakan senyawa yang memiliki cincin heterosiklik dengan nitrogen sebagai unsur utama penyusun hetero atomnya. Adanya nitrogen dalam struktur cincin tersebut menyebabkan sifat senyawa ini menjadi alkali (Aniszewski, 2007; Sumardjo, 2009; Saifudin, 2014). Struktur kimia dari senyawa alkaloid dapat dilihat pada Gambar 2.



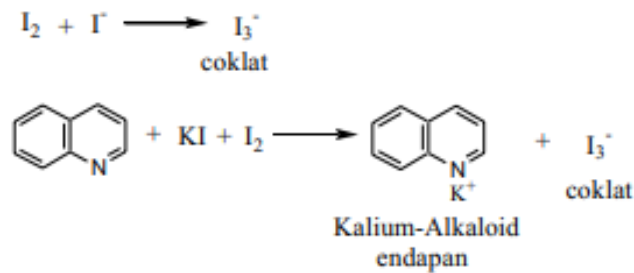
Gambar 2. Struktur kimia senyawa alkaloid (Sumber: Saifudin, 2014)

Senyawa alkaloid pada sampel uji dapat diketahui dengan melakukan uji fitokimia kualitatif. Uji fitokimia kualitatif tersebut menggunakan beberapa pereaksi, seperti Wagner (larutan I<sub>2</sub> dalam kalium iodida), Dragendorff (bismuth potassium iodida) dan Mayer (merkuri potassium iodida) (Sumardjo, 2009). Hasil positif uji alkaloid dengan pereaksi Mayer, Wagner dan Dragendorff secara berturut-turut adalah terbentuknya endapan putih, endapan coklat muda sampai kuning dan endapan merah jingga hingga kuning atau coklat muda (Marliana dkk., 2005).

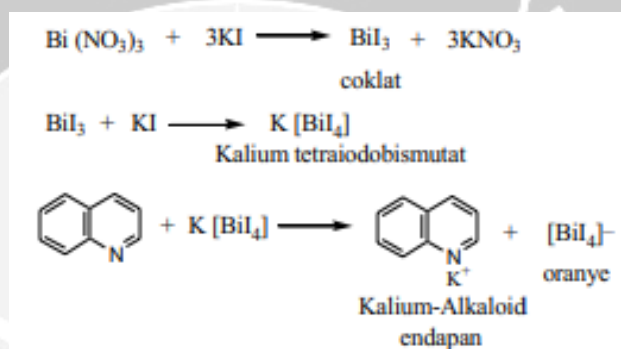
Reaksi yang terjadi ketika dilakukan pengujian alkaloid adalah pengendapan karena adanya ion logam berat. Pengendapan ini terjadi karena atom nitrogen pada alkaloid dapat bereaksi dengan ion logam, karena memiliki pasangan elektron bebas sehingga bersifat reaktif (Masriani dan Budi, 2017). Reaksi yang terjadi antara alkaloid dengan pereaksi Mayer, Wagner dan Dragendorff secara berturut-turut dapat dilihat pada Gambar 3-5.



Gambar 3. Reaksi yang terjadi antara senyawa alkaloid dengan pereaksi Mayer (Sumber: Marliana dkk., 2005).



Gambar 4. Reaksi yang terjadi antara senyawa alkaloid dengan pereaksi Wagner (Sumber: Marlina dkk., 2005).



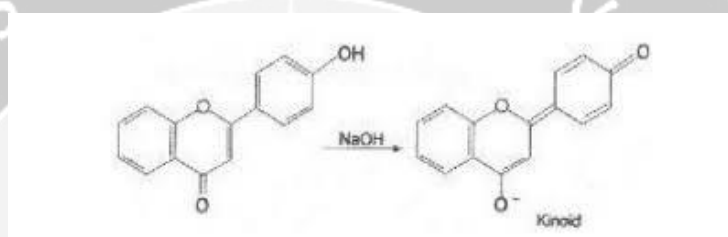
Gambar 5. Reaksi yang terjadi antara senyawa alkaloid dengan pereaksi Dragendorff (Sumber: Marlina dkk., 2005).

## 2. Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang tersebar pada tumbuhan tingkat rendah sampai tumbuhan tingkat tinggi. Bentuk yang sebagian besar ditemukan berupa glikosida dan bersifat polar, sehingga dapat dengan mudah diekstrak menggunakan etanol, metanol maupun air. Tergolong dalam senyawa fenol, flavonoid akan mengalami perubahan warna ketika ditambahkan basa ataupun amonia, sehingga mudah untuk dideteksi (Pradana, 2014; Suryani dkk., 2016).

Pengujian senyawa flavonoid secara kualitatif pada suatu sampel dapat dilakukan dengan penambahan pereaksi berupa NaOH 2M yang akan bereaksi dengan gugus hidroksil fenol bebas yang terdapat pada inti

flavonoid. Penambahan NaOH pada sampel akan mengakibatkan batokromik akibat terjadinya ionisasi dari gugus hidroksil pada struktur flavonoid yang peka terhadap keadaan basa (Pradana, 2014). Reaksi positif yang ditandai dengan perubahan warna sampel menjadi lebih kuning ataupun ditemukan adanya endapan (Sica, 2017). Reaksi yang terjadi antara flavonoid dan pereaksi NaOH dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Reaksi yang terjadi antara senyawa flavonoid dengan pereaksi NaOH (Sumber: Sica, 2017)

Pengujian senyawa flavonoid secara kuantitatif menggunakan metode kolorimetri aluminium klorida. Prinsip metode ini adalah terbentuknya kompleks antara  $AlCl_3$  dengan senyawa flavonoid. Kompleks tersebut terbentuk dari C-4 grup keto dengan salah satu C-3 atau C-5 grup hidroksil dari flavon dan flavonol ketika ditambahkan  $AlCl_3$ . Hasil positif dari reaksi ini adalah terjadinya pergeseran panjang gelombang ke arah tampak yang ditandai dengan terbentuknya warna kuning. Untuk mempertahankan warna kuning yang dihasilkan tetap berada pada panjang gelombang daerah tampak, maka ditambahkan kalium asetat (Pallab dkk., 2013; Safitri dkk., 2018).

Pengujian flavonoid kuantitatif diperlukan kurva kalibrasi. Kurva kalibrasi tersebut memerlukan senyawa standar berupa kuersetin yang dibuat dalam berbagai konsentrasi. Kurva kalibrasi yang dihasilkan akan

terdapat persamaan  $y = ax + b$  yang akan digunakan untuk menentukan kadar flavonoid dalam suatu ekstrak (Pallab dkk., 2013).

### 3. Steroid/Triterpenoid

Steroid merupakan salah satu golongan lipid yang memiliki struktur berbeda dari golongan-golongan lipid lainnya, karena steroid memiliki kerangka siklopentana fenantrena (berasal dari satu atau lebih ekspansi cincin). Struktur steroid mengandung 3 cincin sikloheksana dan 1 cincin siklopentana yang dapat dilihat pada Gambar 7. Steroid merupakan senyawa amphipathik, yaitu senyawa yang memiliki sisi hidrofobik maupun hidrofilik, sehingga dapat larut pada pelarut polar maupun nonpolar (Sumbono 2016; Sumbono, 2019).

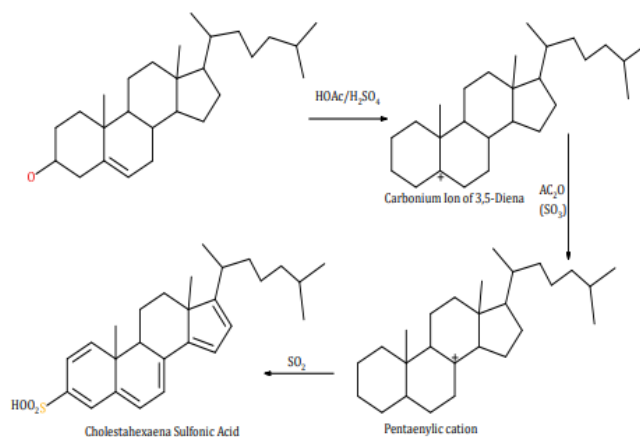


Gambar 7. Struktur senyawa steroid (Sumber: Sumbono, 2019).

Triterpenoid merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder dengan kerangka karbon yang berasal dari enam satuan isopren dan secara biosintesis merupakan turunan hidrokarbon C<sub>30</sub> asiklik, yaitu skualen. Bentuk dari senyawa ini siklik ataupun asiklik yang biasanya memiliki gugus alkohol, aldehida atau asam karboksilat. Sifat dari senyawa ini adalah tak berwarna, berbentuk kristal dan biasanya memiliki titik leleh yang tinggi. Keberadaan senyawa ini dapat dideteksi

pada tumbuhan berbiji ataupun hewan (Harborne, 1987; Robinson, 1995; Widyati, 2006).

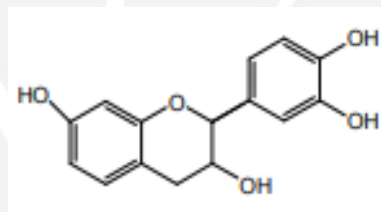
Pengujian keberadaan senyawa steroid/triterpenoid pada suatu sampel dapat dilakukan dengan penambahan pereaksi Liebermann-Burchard (asam asetat anhidrat- $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat). Steroid dan triterpenoid ketika bereaksi dengan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  akan membentuk warna jika dengan bantuan pelarut asam asetat anhidrat. Reaksi positif yang ditunjukkan untuk senyawa triterpenoid adalah terbentuk warna merah, merah jambu atau ungu, sedangkan untuk reaksi positif senyawa steroid akan terbentuk warna hijau sampai biru. Perbedaan warna yang dihasilkan diakibatkan perbedaan gugus pada atom C-4 yang bereaksi dengan pereaksi Liebermann-Burchard (Widiyati, 2006; Habibi dkk., 2018). Reaksi yang terjadi antara senyawa steroid/triterpenoid dengan pereaksi Liebermann-Burchard dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Reaksi yang terjadi antara senyawa steroid/triterpenoid dengan pereaksi Liebermann-Burchard (Sumber: Habibi dkk., 2018).

#### 4. Tanin

Tanin merupakan salah satu senyawa metabolit dari gugus polifenol yang dapat mengikat dan mengendapkan atau menyusutkan protein koloid dan asam lemah. Tanin merupakan senyawa yang bersifat polar, sehingga larut dalam air dan pelarut organik serta menyebabkan rasa pahit dan bau langu, karena adanya enzim lipoksigenase (Ismarani, 2012; Kusumaningsih dkk., 2015).. Struktur inti dari senyawa tanin dapat dilihat pada Gambar 9.

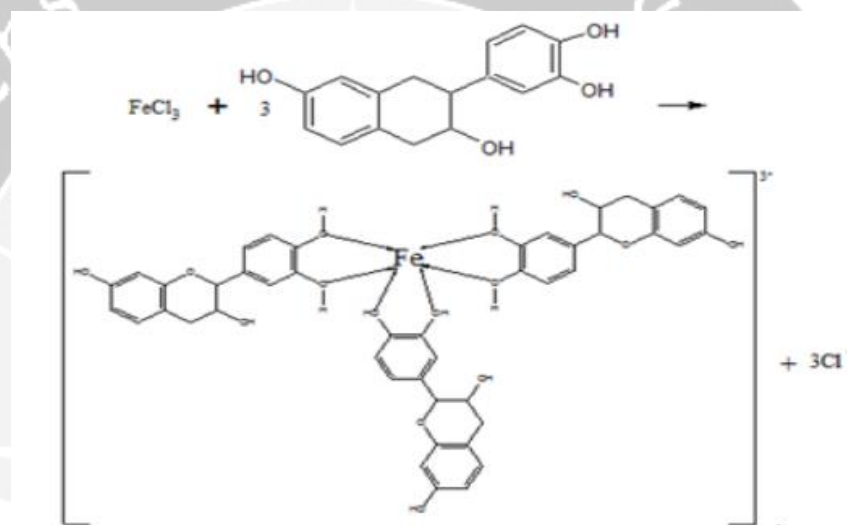


Gambar 9. Struktur senyawa tanin (Sumber: Sa'adah, 2010)

Tanin terbagi menjadi 2 jenis, yaitu tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi, namun jenis tanin yang paling dominan adalah jenis tanin terkondensasi (Kraus dkk., 2003). Tanin terkondensasi merupakan senyawa ester yang memiliki struktur gula sederhana dengan satu atau lebih polifenol asam karboksilat yang mudah terhidrolisis dengan asam, basa atau enzim. Jenis tanin juga dapat terpecah menjadi asam galat jika dilarutkan dalam air. Kadar tanin pada tanaman tingkat tinggi maupun tingkat rendah berbeda-beda sesuai jenis tanaman (Soenardjo dan Supriyantini, 2017).

Pengujian fitokimia untuk mengetahui keberadaan senyawa tanin secara kualitatif dilakukan dengan penambahan pereaksi  $\text{FeCl}_3$ .

Penambahan pereaksi  $\text{FeCl}_3$  akan membentuk kompleks karena bereaksi dengan gugus  $-\text{OH}$  yang ada pada struktur senyawa tanin. Kompleks yang terjadi antara senyawa tanin dengan pereaksi  $\text{FeCl}_3$  akan membentuk warna kuning kehijauan, merah, ungu, biru ataupun hitam yang pekat (Habibi dkk., 2018; Setiabudi dan Tukiran, 2017). Reaksi yang terjadi antara senyawa tanin dengan pereaksi  $\text{FeCl}_3$  dapat dilihat pada Gambar 10.



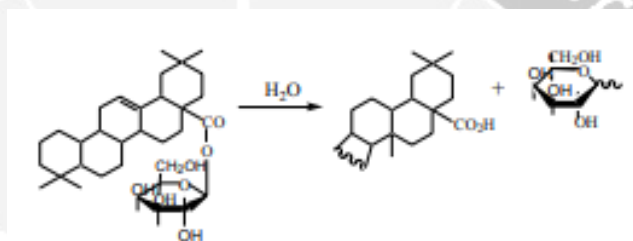
Gambar 10. Reaksi yang terjadi antara senyawa tanin dengan pereaksi  $\text{FeCl}_3$  (Sumber: Sa'adah, 2010).

## 5. Saponin

Saponin merupakan glikosida yang tersebar luas di berbagai tanaman tingkat tinggi. Glikosida tersebut tersusun atas aglikon yang mengikat satu atau beberapa rantai glukosa. Struktur aglikon tersebut tersusun atas rantai steroid atau triterpenoid yang bersifat nonpolar. Keberagaman struktur yang menyusun saponin menyebabkan saponin bersifat seperti sabun dan berbagai efek biologis (Yanuarto dkk., 2017; Güçlü-üstündağ dan Mazza, 2007; Fahrunnida dan Pratiwi, 2015).



Pengujian fitokimia untuk mengetahui keberadaan senyawa saponin dalam suatu ekstrak dilakukan dengan menambahkan akuades ke dalam ekstrak, kemudian dikocok. Prinsip uji ini adalah reaksi hidrolisis yang terjadi pada struktur saponin dengan bantuan akuades. Reaksi positif dari uji ini ditandai dengan terbentuknya busa yang relatif stabil (Setiabudi dan Tukiran, 2017). Reaksi hidrolisis struktur saponin karena adanya penambahan akuades dapat dilihat pada Gambar 11.



Gambar 11. Reaksi hidrolisis yang terjadi antara senyawa saponin dengan akuades (Sumber: Marliana dkk., 2005)

Kandungan senyawa fitokimia pada suatu sampel dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya adalah lingkungan tempat tumbuh dan umur tanaman yang digunakan. Tempat tumbuh sampel dapat memengaruhi jenis dan jumlah kandungan senyawa kimia bahan. Perbedaan umur sampel juga mempengaruhi jenis kandungan senyawa yang terkandung, karena senyawa kimia dihasilkan pada jalur dan tahapan metabolisme berbeda (Omokhua, 2015).

## 6. Fenolik

Senyawa fenolik merupakan salah satu senyawa yang dihasilkan oleh tumbuhan sebagai respon stress terhadap lingkungan hidupnya, sehingga penyebaran senyawa ini pada tumbuhan merata, terutama pada

bagian daun. Senyawa ini dihasilkan sebagai respon stress tumbuhan yang berfungsi untuk melindungi tumbuhan agar dapat bertahan hidup (Hanin dan Pratiwi, 2017). Berdasarkan struktur kimianya, senyawa ini memiliki gugus hidroksil (-OH) dan gugus alkoksi (-OR), sehingga dapat dimanfaatkan sebagai senyawa antioksidan (Lestari dkk., 2018; Sumardjono, 2008). Senyawa fenolik tergolong dalam senyawa polar, sehingga dapat diekstraksi dengan bantuan pelarut-pelarut polar dan cenderung larut dalam air. Keberadaan senyawa ini biasanya ditemukan dalam vakuola sel dan umumnya berikatan dengan gula sebagai glikosida (Lestari dkk., 2018).

Pengujian kandungan senyawa fenolik pada suatu sampel dapat dilakukan secara kualitatif maupun kuantitatif, namun pada penelitian ini hanya akan dilakukan pengujian fenolik secara kuantitatif. Pengujian secara kuantitatif menggunakan metode Folin-Ciocalteu. Prinsip dari metode ini adalah terjadinya oksidasi senyawa fenolik yang terkandung dalam sampel oleh *molybdotungstate* yang merupakan salah satu komponen reagen Folin-Ciocalteu, sehingga terjadi perubahan warna dari kuning menjadi biru (Agustiningsih dkk., 2010).

Reaksi oksidasi senyawa fenolik oleh reagen Folin-Ciocalteu berjalan lambat pada kondisi asam tetapi dapat berjalan cepat ketika kondisi basa. Hal ini menyebabkan perlunya penambahan senyawa yang dapat membentuk suasana basa yaitu natrium bikarbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ). Pengujian senyawa fenolik secara kuantitatif diperlukan adanya senyawa

standar untuk membuat kurva kalibrasi, yaitu asam galat dengan variasi konsentrasi, sehingga didapatkan persamaan  $y = ax + b$ . Persamaan tersebut yang akan digunakan untuk penentuan kadar senyawa fenolik yang terkandung pada suatu sampel (Agustiningsih dkk., 2010).

#### **E. Radikal Bebas**

Radikal bebas merupakan suatu molekul maupun bagian dari suatu molekul dimana keadaannya tidak utuh yang disebabkan pecahnya elektron ataupun elektron yang terlepas dari molekul (Tambayong, 1999). Ketidakutuhan molekul tersebut menyebabkan elektron pada molekul menjadi tidak berpasangan dan memiliki sifat reaktif (Sari, 2015). Molekul yang tidak berpasangan tersebut akan bersifat reaktif dalam melengkapi kekurangan elektron yang berpasangan dengan cara berikatan dengan elektron lain dari molekul berbeda yang dapat ditemukan di sekitar keberadaan molekul tersebut (Sunarni dkk., 2007).

Molekul yang tidak stabil akibat tidak memiliki pasangan elektron pada orbital terluarnya akan menjadi reaktif dan mengakibatkan terjadinya ikatan antara molekul tersebut dengan sel tubuh, sehingga menimbulkan kerusakan-kerusakan pada tubuh (Bahriul dkk., 2014). Pengikatan elektron tidak berpasangan tersebut dengan sel tubuh mengakibatkan munculnya penyakit-penyakit degeneratif yang disebabkan adanya malfungsi pada sel-sel tubuh (Juniarti dkk., 2009). Beberapa penyakit degeneratif yang ditimbulkan, seperti kanker, diabetes, hipertensi, arterosklerosis maupun asma (Birben dkk., 2012).

Keberadaan radikal bebas dalam tubuh dapat dihambat dengan antioksidan yang alami dihasilkan oleh tubuh melalui metabolisme sel normal dan respon peradangan. Antioksidan tambahan diperlukan jika jumlah radikal bebas dalam tubuh terus meningkat, sehingga sistem pertahanan tubuh tidak mampu untuk melawan. Peningkatan radikal bebas dalam tubuh dapat disebabkan oleh beberapa faktor, seperti polusi lingkungan, stres, paparan asap rokok dan radiasi (Birben dkk., 2012; Wahdaningsih dkk., 2011).

Radikal bebas yang biasa digunakan sebagai model dalam uji penentuan kemampuan penghambatan radikal bebas suatu senyawa yang terkandung pada bahan adalah DPPH (1,1-difenil-2-pikrihidrazil). DPPH merupakan radikal bebas yang stabil jika disimpan dalam bentuk kering maupun pada suhu 27 °C. Ketidakutuhan molekul pada DPPH akan dilengkapi dengan adanya donor elektron ketika terjadi reaksi dengan senyawa yang bersifat antioksidan (Arifin, 2016; Tristantini dkk., 2016).

#### **F. Antioksidan**

Antioksidan merupakan senyawa donor elektron atau pemberi elektron yang memiliki kemampuan menonaktifkan reaksi oksidasi dengan cara mencegah pembentukan radikal (Winarsi, 2007). Jika senyawa yang berperan sebagai antioksidan dalam konsentrasi  $IC_{50}$  rendah yaitu sebesar 250-500 ppm bertemu dengan substrat yang mudah teroksidasi, maka substrat tersebut akan mengalami penghambatan oksidasi (Sunarni dkk., 2007; Jun dkk., 2006). Hal ini juga dapat mencegah terjadinya efek negatif seperti penuaan dini akibat terjadinya reaksi oksidasi yang berlebihan pada tubuh (Prakash, 2001).

Golongan senyawa yang dapat berperan sebagai senyawa antioksidan ialah senyawa fenolik dan kelompok dari senyawa fenolik, yaitu flavonoid (Santoso dkk., 2016; Hanin dan Pratiwi, 2017).

### **1. Fenolik**

Senyawa fenolik merupakan salah satu senyawa yang dihasilkan oleh tumbuhan sebagai respon stress terhadap lingkungan hidupnya. Produksinya diakibatkan karena terjadinya stress pada tumbuhan, sehingga penyebaran senyawa ini pada tumbuhan merata, terutama pada bagian daun. Senyawa ini dihasilkan sebagai respon stress tumbuhan yang berfungsi untuk melindungi tumbuhan agar dapat bertahan hidup. Tidak hanya bagi tumbuhan, senyawa ini juga memiliki peran penting dalam kehidupan manusia, seperti mencegah penuaan dini, kanker dan penyakit degeneratif lainnya (Hanin dan Pratiwi, 2017; Lestari dkk., 2018).

Senyawa fenolik tergolong dalam senyawa aromatik yang merupakan turunan dari benzene. Berdasarkan struktur kimianya, senyawa ini memiliki gugus hidroksil (-OH) dan gugus alkoksi (-OR), sehingga dapat dimanfaatkan sebagai senyawa antioksidan (Lestari dkk., 2018; Sumardjono, 2008). Senyawa fenolik tergolong dalam senyawa polar, sehingga dapat diekstraksi dengan bantuan pelarut-pelarut polar dan cenderung larut dalam air. Keberadaan senyawa ini biasanya ditemukan dalam vakuola sel dan umumnya berikatan dengan gula sebagai glikosida (Lestari dkk., 2018).

Senyawa fenolik dimanfaatkan sebagai antioksidan, karena memiliki kemampuan untuk membentuk ion fenoksida. Ion fenoksida yang terbentuk ini akan menjadi pendonor satu elektron kepada radikal bebas. Donor elektron yang dilakukan akan menyebabkan radikal bebas yang reaktif karena kekurangan satu elektron akan menjadi elektron yang tidak reaktif lagi atau stabil (Dhianawaty dan Ruslin, 2015).

## **2. Flavonoid**

Flavonoid merupakan senyawa yang tersebar banyak hampir di seluruh bagian tumbuhan, seperti daun, kulit batang, akar dan buah (Minarno, 2015). Flavonoid termasuk dalam golongan polifenol yang tersebar pada tumbuhan dan bersifat polar. Kepolaran tersebut diakibatkan adanya ikatan antara glikosida yang merupakan bentuk flavonoid dalam tumbuhan dengan gula. Pelarut yang bersifat polar seperti etanol, air, aseton, isopropanol dan metanol merupakan beberapa contoh pelarut yang biasanya digunakan dalam proses ekstraksi senyawa flavonoid (Suryani dkk., 2016).

Kemampuan senyawa golongan flavonoid sebagai antioksidan dipengaruhi oleh adanya gugus fungsional yang berikatan pada struktur utamanya (Santoso dkk., 2016). Gugus fungsional tersebut merupakan gugus hidroksil yang berikatan dengan gugus karbon yang berada di cincin aromatik, hal ini mengakibatkan radikal bebas hasil peroksidasi lemak dapat ditangkap. Mekanisme antioksidan dari senyawa flavonoid adalah

terjadinya kestabilan dari radikal hasil peroksi lemak dengan adanya penambahan satu atom hidrogen (Hamid dkk., 2010).

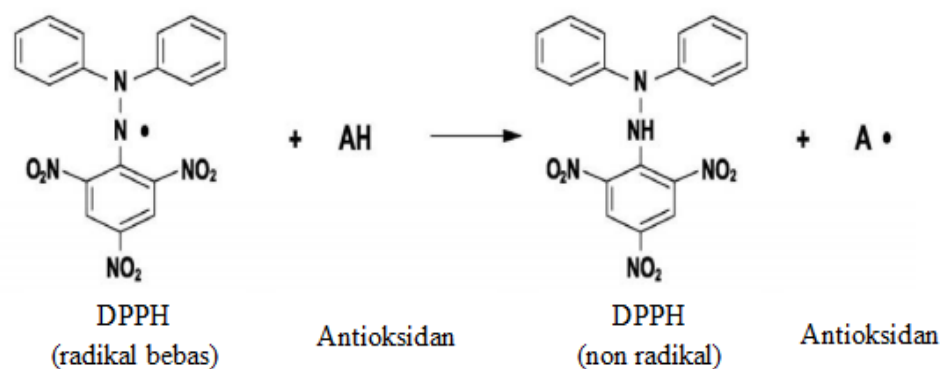
### **G. Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH**

Metode yang dapat digunakan untuk melakukan uji untuk mengetahui aktivitas dari suatu senyawa antioksidan yang dilakukan secara *in vitro* ialah DPPH (2,2 difenil-1-pikrilhidrazil) yang merupakan pengukuran aktivitas antioksidan secara kuantitatif, karena memiliki hasil akhir berupa angka yang menggambarkan kemampuan senyawa antioksidan dalam menyerap radikal bebas (Molyneux, 2004). Penggunaan metode ini berfungsi untuk mengukur reaktivitas dari suatu senyawa uji ketika ditambahkan radikal. Senyawa antioksidan yang terkandung akan menangkap radikal bebas sehingga berpasangan (Lung dan Destiani, 2017).

Pada metode DPPH, senyawa antioksidan yang terkandung dalam bahan akan bereaksi dengan radikal DPPH dengan cara menjadi donatur atom hidrogen, sehingga mengakibatkan terjadinya perubahan warna dari ungu ke kuning. Perubahan warna dapat dideteksi dengan bantuan alat spektrofotometri uv-vis menggunakan panjang gelombang sebesar 517 nm (Khasanah dkk., 2014). Penggunaan panjang gelombang 517 nm karena akan memberikan nilai absorbansi maksimum dari warna dihasilkan oleh sampel ketika ditambahkan dengan senyawa DPPH (Sunarni dkk., 2007).

Mekanisme penghambatan DPPH terjadi ketika DPPH ditambahkan dalam suatu bahan yang mengandung antioksidan, maka akan terjadi eliminasi radikal bebas, yaitu akan terjadi donor hidrogen antara radikal bebas dengan senyawa

antioksidan. Akibat adanya donor tersebut, maka terjadi stabilitas resonansi terhadap ikatan rangkap terkonjugasi, sehingga menjadi radikal yang stabil dan tidak reaktif. Perubahan sifat ini menyebabkan tidak terjadinya kerusakan pada sel-sel tubuh (Da'i dan Triharman, 2010). Reaksi antara radikal bebas DPPH dengan senyawa antioksidan dapat dilihat pada Gambar 12.



Gambar 12. Reaksi antara Radikal Bebas dengan Senyawa Antioksidan (Sumber: Pisoschi dkk., 2009)

## H. Hipotesis

Metode ekstraksi yang dapat menghasilkan ekstrak yang memiliki aktivitas antioksidan terbaik dari tanaman rumput mutiara (*Oldenlandia corymbosa*) adalah ekstraksi menggunakan gelombang ultrasonik dengan pelarut metanol.