

BAB I

TINJAUAN PUSTAKA

1.1 Tinjauan Tumbuhan

1.1.1. Klasifikasi tumbuhan kentut

Klasifikasi tumbuhan kentut (*Paederia foetida* L.) menurut Cronquist (1981: xiii-xviii) serta Backer & Bakhuizen van den Brink (1965:346-347)

Kerajaan : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Anak Kelas : Asteridae

Bangsa : Rubiales

Suku : Rubiaceae

Marga : *Paederia*

Jenis : *Paederia foetida* L.

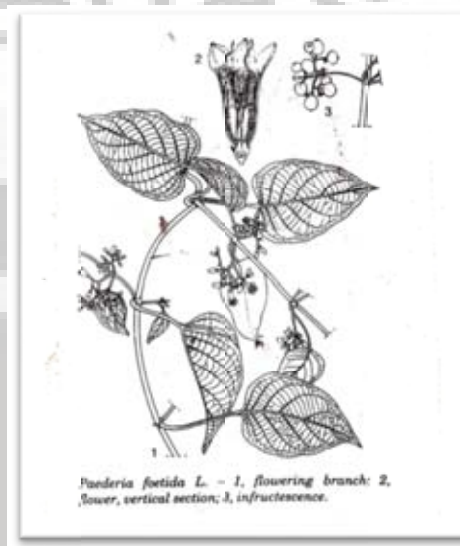
Sinonim : *Paederia scadens* (Lour.). Merr; *Paederia tementosa* Blume.

Nama daerah : Kahitutan (Sunda); sembukan (Jawa).

1.1.2. Deskripsi Tumbuhan

Tumbuhan kentut ini merupakan sejenis tumbuhan berbatang memanjat yang dapat tumbuh di lapangan terbuka, di pagar-pagar, dan di tebing-tebing sungai. Daun yang digosokkan di tangan, akan mengeluarkan bau busuk yang menyengat sehingga disebut daun kentut (Heyne,1987:1793).

Daun tunggal, berbentuk bundar telur sampai lonjong, pangkal daun berbentuk jantung, ujung daun lancip, pinggir daun rata. Permukaan atas berambut warna coklat kehitaman serta berambut rapat atau jarang, permukaan bawah berwarna kelabu kecoklatan dan terasa lebih halus dan berambut, tulang daun menyirip, tulang daun pada permukaan bawah lebih menonjol daripada permukaan atas (Depkes, 1989:377).



Gambar 1.1 Daun kentut (Aguilar, 2001:398)

1.1.3. Kandungan Kimia

Tumbuhan kentut ini memiliki kandungan zat aktif friedelan-3-one, beta-sitosterol dan epifriedelinol (Khare,2004:347). Pada daun kentut kandungan zat aktif yang dimiliki yaitu glikosida iridoid asperulin, aukobin, paederosida, dan arbutin, triterpen dan sistosterol, paederon dan paederolon, peifridenalol asetat, metil merkaptan (Depkes, 1989: 379), stigmasterol, kampesterol; asam ursol, hentriakon, hentrikontanol, ceryl alkohol, asam palmitat dan metil merkaptan (Khare, 2004:347). Selain itu terdapat pula alkaloid, flavonoida dan tanin (Shetti,dkk.,2012:2079).

1.1.4. Kegunaan

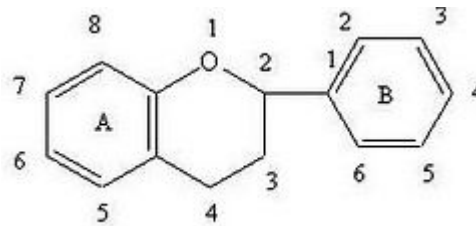
Sejak jaman dahulu daun kentut ini telah dimanfaatkan sebagai tanaman obat yaitu untuk mengobati perut kembung (Depkes, 1989: 379). Selain itu juga dapat mengobati mata bengkak, penyakit maag, disentri, dan herpes (Heyne,1987:1793). Selain itu dapat mengobati reumatik, hepatitis, batuk, beri-beri, antibakteri, mengurangi rasa nyeri atau analgesik, dan penenang atau sedatif (Kimura,1996:133).

1.1.5. Ekologi dan Penyebaran

Tumbuhan kentut ini sering tumbuh di semak-semak dan tanah yang penuh dengan pepohonan. Tetapi juga dapat tumbuh di tepi hutan. Tumbuhan ini dapat tumbuh di pegunungan dengan ketinggian sampai 3000 m di atas permukaan laut, selain itu di lereng hutan yang curam atau di pantai laut berpasir atau berbatu. Tumbuhan ini ditemukan di Asia utara-timur yaitu dari India ke Cina kemudian Jepang, selanjutnya menyebar ke Asia selatan yaitu Thailand, Malaysia, Indonesia dan Philipina. Hingga menyebar ke daerah utara Amerika (Carolina utara, Texas, Louisiana), dan Hawaii sebagai hiasan (Aguilar, 2001:399).

1.2. Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu senyawa golongan fenol alam yang terbesar (Harbone, 1987:47). Flavonoid terdapat dalam semua tumbuhan hijau sehingga pasti ditemukan pada setiap telaah ekstrak tumbuhan (Markham, 1988:1). Struktur umum untuk flavonoid dapat terlihat pada **Gambar 1.2.**



Gambar 1.2. Struktur umum flavonoid (Robinson,1995:191).

Ketahanan oksidasi dapat dibedakan dari adanya gugus hidroksil pada rantai C3 (Robinson,1995:191). Dalam tumbuhan flavonoid terikat pada gula sebagai glikosida dan aglikon flavonoid (Harbone, 1987:71).

Flavonoid merupakan senyawa pereduksi yang baik, menghambat banyak reaksi oksidasi, baik secara enzim maupun non enzim (Robinson,1995:193). Pada tumbuhan flavonoid ini berfungsi sebagai pengaturan tumbuh, pengaturan fotosintesis, antimikroba dan antivirus (Robinson,1995:191). Flavonoid dapat dijadikan obat tradisional karena flavonoid dapat bekerja sebagai inhibitor pernafasan, menghambat aldoreduktase, monoamina oksidase, protein kinase, DNA polimerase dan lipooksigenase (Robinson,1995:192).

Flavonoid terbukti mempunyai efek biologis antioksidan yang sangat kuat yaitu sebagai antioksidan yang dapat menghambat penggumpalan keping-keping sel darah, merangsang pembentukan produksi nitrit oksida (NO) yang berperan melebarkan pembuluh darah (*vasorelaction*) dan juga menghambat pertumbuhan sel kanker (Winarsi, 2007:22).

1.2.1. Sifat kelarutan flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa polar karena mempunyai sejumlah gugus hidroksil sehingga akan larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, air. Sebaliknya, aglikon flavonoid yang kurang polar seperti isoflavon, flavanon,

dan flavon serta flavonol yang termetoksilasi cenderung lebih mudah larut dalam pelarut seperti eter dan kloroform (Markham, 1988:15).

1.2.2 Penyebaran flavonoid di alam

Flavonoid merupakan kandungan khas tumbuhan hijau dengan mengecualikan alga dan *hornwort*. Flavonoid terdapat pada bagian tumbuhan termasuk daun, akar, kayu, kulit, tepung sari, nektar, bunga, buah buni dan biji (Markham, 1988:10). Segi penting penyebaran flavonoid dalam tumbuhan ialah adanya kecenderungan kuat bahwa tetumbuhan secara taksonomi berkaitan akan menghasilkan flavonoid yang jenisnya serupa (Markham, 1988:13).

1.3.1 Radikal Bebas dan Antioksidan

Radikal bebas dapat terbentuk dari komponen makanan yang diubah menjadi energi melalui proses metabolisme dan sering kali terjadi kebocoran elektron sehingga mudah sekali terbentuk radikal bebas. Selain itu dapat juga terbentuk dari senyawa lain yang bukan radikal bebas seperti H_2O_2 . Kedua kelompok tersebut sering diistilahkan sebagai Senyawa Oksigen Reaktif (SOR) atau *Reactive Oxygen Species* (ROS) (Winarsi, 2007:12).

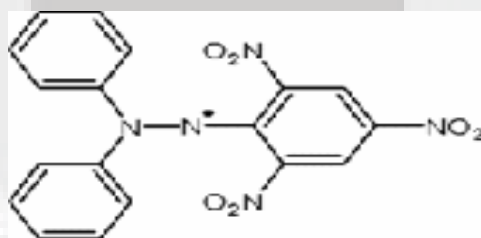
Menurut Soeatmaji (1998) dalam Winarsi (2007) radikal bebas (*free radical*) adalah suatu senyawa atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan. Adanya elektron yang tidak berpasangan menyebabkan senyawa tersebut sangat reaktif mencari pasangan dengan cara menyerang dan mengikat elektron molekul yang berada di sekitarnya.

Reaktivitas radikal bebas sangat tinggi merupakan upaya untuk mencari pasangan elektron sehingga akan terbentuk radikal bebas baru yang berasal dari

atom atau molekul elektronnya yang diambil untuk berpasangan dengan radikal sebelumnya (Winarsi, 2007:16). Secara umum, tahapan reaksi pembentukan radikal bebas melalui tiga tahapan reaksi. Inisiasi, yaitu awal pembentukan radikal bebas, propagasi, yaitu pemanjangan rantai radikal, terminasi yaitu bereaksinya senyawa radikal dengan radikal lain atau penangkap radikal, sehingga potensi propagasinya rendah (Winarsi, 2007:18).

1.3.1. DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl-diphenyl- β -picrylhydrazyl)

DPPH merupakan radikal bebas yang stabil dengan adanya perpindahan kelebihan elektron dari molekul sehingga molekul tersebut tidak dapat berdimerisasi. Perpindahan elektron ini dapat memberikan warna ungu yang pekat dan dapat diabsorpsi pada larutan etanol pada panjang gelombang 520 nm (Molyneux, 2004:212). Struktur DPPH dapat dilihat pada **Gambar 1.3**.



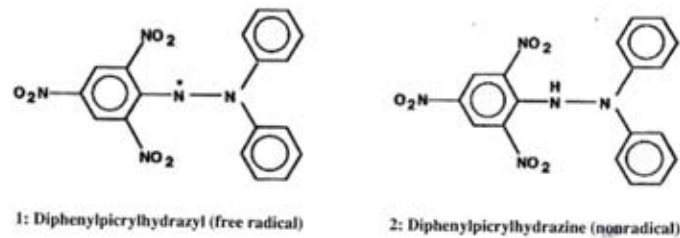
Gambar 1.3. Struktur DPPH (Hatano, dkk.,1998).

Radikal bebas DPPH bersifat peka terhadap cahaya, oksigen, pH dan jenis pelarut yang digunakan akan tetapi bersifat stabil dalam bentuk radikal sehingga memungkinkan untuk dilakukan pengukuran antioksidan (Molyneux, 2004:215).

Mekanisme penangkapan radikal DPPH, yaitu melalui donor atom H dari senyawa antioksidan yang menyebabkan peredaman warna radikal pikrilhidrazil yang berwarna ungu menjadi pikrilhidrazil berwarna kuning yang nonradikal

(Molyneux, 2004:212). Mekanisme penangkapan atom H dapat dilihat pada

Gambar 1.4.



Gambar 1.4. Mekanisme penangkapan atom H dari senyawa antioksidan
(Molyneux, 2004:212)

Metode DPPH merupakan metode uji aktivitas antioksidan yang paling banyak dilakukan. Metode DPPH dipilih karena memiliki beberapa keunggulan, di antaranya yang mudah dan cepat untuk mengevaluasi antioksidan secara spektrofotometri (Garcia., dkk, 2012:2), selain itu sederhana, sensitif serta membutuhkan sedikit sampel (Aji, 2009).

Metode peredaman radikal bebas DPPH hanya dapat digunakan untuk senyawa antioksidan yang terlarut dalam pelarut organik yaitu etanol dan metanol (Molyneux, 2004:215). DPPH secara luas digunakan untuk mengukur dan membandingkan aktivitas antioksidan senyawa-senyawa fenolik dan mengevaluasi aktivitas antioksidan melalui perubahan absorbansi yang terjadi (Molyneux, 2004:216).

Larutan DPPH yang berisi sampel diukur absorbansinya dan dihitung aktivitas antioksidannya dengan persen inhibisi, yaitu banyaknya aktivitas senyawa antioksidan yang dapat menangkap radikal bebas DPPH. Parameter yang umum digunakan untuk mengetahui besarnya aktivitas antioksidan pada suatu

ekstrak bahan adalah dengan menentukan nilai *Inhibition Concentration* 50% (IC50) bahan antioksidan tersebut. IC50 merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi ekstrak yang mampu menghambat aktivitas radikal sebesar 50% (Molyneux, 2004:214). IC50 ini menunjukkan konsentrasi substrat yang dapat bereaksi dengan DPPH yang dapat diketahui setelah kesetimbangan stokiometri tercapai (Molyneux, 2004:217).

1.3.2. Antioksidan

Sifat reaktivitas radikal bebas yang tinggi sehingga dapat mengakibatkan pembentukan senyawa radikal baru dan jika bertemu dengan molekul lain akan terbentuk radikal baru lagi sehingga terjadi reaksi berantai (*chain reaction*). Reaksi ini akan terus berlanjut dan baru berhenti apabila reaktivitasnya diredam (*quenched*) oleh senyawa yang bersifat antioksidan. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan dapat dihambat (Winarsi, 2007:15).

Senyawa antioksidan seperti fenol, polifenol, dan flavonoid dapat menghambat mekanisme oksidasi yang disebabkan radikal bebas. Senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan kuat adalah fenol yang memiliki gugus hidroksi pada posisi orto dan para (Shahidi, 1997:4).

Berdasarkan mekanisme kerjanya antioksidan digolongkan menjadi tiga kelompok yaitu antioksidan primer, antioksidan sekunder dan antioksidan tersier. Antioksidan primer disebut juga antioksidan enzimatis, senyawa antioksidan primer dapat memberikan atom hidrogen secara cepat ke senyawa radikal, radikal antioksidan yang terbentuk berubah menjadi stabil (Winarsi,2007:79).

Antioksidan sekunder termasuk pertahan preventif. Kerja sistem antioksidan non enzimatik dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas atau dengan menangkapnya. Antioksidan tersier meliputi enzim DNA repair dan metionin reduktase. Enzim-enzim ini berfungsi dalam perbaikan biomolekuler yang rusak akibat reaktivitas radikal bebas. Kerusakan DNA yang tereduksi senyawa radikal bebas dicirikan oleh rusaknya struktur pada gugus non-basa maupun basa (Winarsi, 2007:81).

1.4. Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia merupakan tahap pendahuluan dalam penelitian fitokimia. Secara umum dapat dikatakan bahwa sebagian besar metodenya merupakan reaksi pengujian warna dengan suatu pereaksi warna.

Pendekatan penapisan fitokimia meliputi analisis kualitatif kandungan kimia dalam tumbuhan atau bagian tumbuhan (akar, batang, daun, buah, bunga, biji). Penapisan fitokimia dilakukan untuk mengetahui adanya beberapa golongan senyawa diantaranya senyawa monoterpenoid, seskuioterpenoid, alkaloid, saponin, tannin, kuinon, steroid, triterpenoid, dan polifenolat (Farnsworth, 1996:247-264). Sedangkan tujuan penapisan fitokimia adalah untuk mengetahui kandungan yang ada dalam tumbuhan yang berguna untuk pengobatan. (Farnsworth, 1966:247).

1.5. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair (Depkes, 2000:1). Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia digolongkan menjadi minyak atsiri, alkaloid, flavonoid dan lain-lain. Struktur

kimia yang berbeda mempengaruhi kelarutan serta stabilitas senyawa terhadap pemanasan, udara, cahaya, logam berat, dan derajat keasaman (Depkes 2000:1). Sebelum memulai ekstraksi, dilakukan persiapan bahan baku yang mencakup pengeringan bahan sampai kadar air tertentu dan pemotongan bahan untuk mempermudah proses ekstraksi. Bahan yang akan diekstrak sebaiknya berukuran seragam untuk mempermudah kontak antar bahan dengan pelarut (Purseglove,dkk,1981:331).

Dengan mengetahui kandungan dalam simplisia akan mempermudah dalam pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat (Depkes, 2000:1). Dalam Farmakope Indonesia edisi IV (1995) dijelaskan bahan ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan cara mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan. Ekstrak sebagai bahan antara berarti masih menjadi bahan yang dapat diproses lagi menjadi fraksi-fraksi, isolat senyawa tunggal atau tetap sebagai campuran dengan ekstrak lain (Depkes, 2000: 6) .

Pemindahan komponen dari padatan ke pelarut pada ekstraksi padat-cair melalui tiga tahapan, yaitu terjadi proses perpindahan pelarut ke pori-pori padatan atau ke dinding sel, di dalam dinding sel terjadi pelarutan padatan oleh pelarut, dan tahapan terakhir adalah pemindahan larutan dari pori-pori menjadi larutan ekstrak. Ekstraksi padat-cair dipengaruhi oleh waktu ekstraksi, suhu yang

digunakan, pengadukan, dan banyaknya pelarut yang digunakan (Harborne, 1987:45).

Pelarut dalam ekstraksi adalah pelarut yang baik (optimal) untuk senyawa kandungan yang berkhasiat atau yang aktif sehingga dapat dipisahkan dari bahan atau senyawa kandungan lainnya serta ekstrak hanya mengandung sebagian besar senyawa kandungan yang diinginkan yaitu yang melarutkan hampir semua metabolit sekunder yang terkandung. Faktor utama pemilihan pelarut yaitu: selektivitas, kemudahan bekerja dan proses dengan cairan tersebut, ekonomis, ramah lingkungan dan keamanan (Depkes, 2000: 9).

Alkohol merupakan pelarut universal yang baik untuk mengekstraksi semua golongan senyawa metabolit sekunder selain itu memenuhi syarat kefarmasian atau "*pharmaceutical grade*" (Depkes, 2000:9). Metode ekstraksi yang digunakan untuk proses ekstraksi dalam penelitian ini adalah maserasi.

Maserasi adalah proses ekstraksi simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan dan pengadukan pada suhu ruang dan termasuk metode ekstraksi secara dingin. Dengan pengocokan kesetimbangan konsentrasi bahan ekstraksi lebih cepat dalam cairan (Depkes, 2000:10).

1.6. Fraksinasi

Fraksinasi merupakan suatu metode pemisahan campuran menjadi beberapa fraksi yang berbeda susunannya. Tahapan fraksinasi, pemisahan dan pemurnian dapat dilakukan dengan beberapa teknik diantaranya dengan ekstraksi cair-cair (ECC) sehingga didapatkan suatu senyawa dengan jumlah yang cukup untuk pemurnian.

Ekstraksi cair-cair merupakan pemisahan komponen kimia antara dua fase pelarut yang tidak saling bercampur sehingga sebagian komponen larut dalam fasa pertama kemudian sebagian nya larut dalam fase kedua yang mengandung zat pendispersi, kemudian dikocok dan didiamkan hingga terjadi pemisahan sempurna dan terbentuk dua lapisan fase cair. Komponen kimia akan terlarut tergantung tingkat kepolaran dengan perbandingan konsentrasi yang tetap (Sudjadi,1986:64)

1.7. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi merupakan suatu metode analisis yang digunakan untuk memisahkan campuran komponen berdasarkan distribusi komponen tersebut diantara dua fase, yaitu fase diam dan fase gerak (Deinstrop,2007:1). Kromatografi lapis tipis disebut juga kromatografi planar (Day & Underwood, 2001:552).

Kromatografi Lapis Tipis merupakan metode analisis yang akurat, cepat dan murah (Deinstrop, 2007:2). Kromatografi lapis tipis dapat memisahkan senyawa-senyawa non polar dan konstituen yang sulit menguap (Khopkar, 1990:148) selain itu dapat mendeteksi hampir semua senyawa termasuk senyawa anorganik (Watson, 2009:368). Dalam KLT, sistem pengembangan yang digunakan berdasarkan prinsip adsorpsi desorpsi. Kromatografi adsorpsi didasarkan pada retensi zat terlarut oleh adsorpsi permukaan (Khopkar, 1990:148).

Fase diam pada KLT berupa padatan penyerap yang dihasilkan pada sebuah plat datar dari gelas, plastik atau alumina sehingga membentuk lapisan tipis dengan ketebalan tertentu. Fase diam atau penyerap yang bisa digunakan

sebagai pelapis plat adalah silika gel (SiO_2), selulosa, alumina (Al_2O_3) (Day & Underwood,2001:552) dan kieselguhr (Watson,2009:372). Kebanyakan penyerap yang digunakan adalah silika gel, dimana telah tersedia plat yang siap pakai (Padmawinata, 1991:87).

Fasa gerak atau eluen merupakan faktor yang menentukan gerakan komponen-komponen dalam campuran. Pemilihan pelarut tergantung pada sifat kelarutan komponen tersebut terhadap pelarut yang digunakan. Fase gerak perlahan naik sepanjang fase diam sehingga terbentuklah kromatogram (Khopkar,1990:164).

Mekanisme KLT adalah sampel diteteskan pada lapisan tipis kemudian dimasukkan ke dalam wadah yang berisi fase gerak sehingga sampel tersebut terpisah menjadi komponen-komponennya dengan laju tertentu yang dinyatakan dengan faktor retensi (R_f), yaitu perbandingan antara jarak yang ditempuh komponen terhadap jarak yang ditempuh fase gerak (Padmawinata,1991:90)

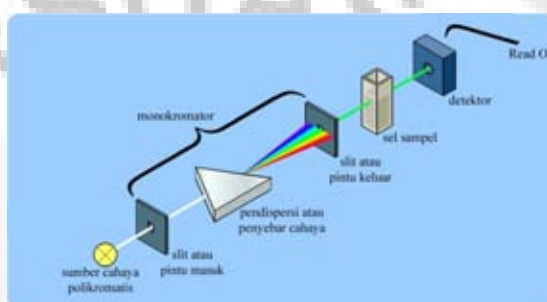
$$\text{Harga } R_f = \frac{\text{jarak yang digerakkan oleh senyawa dari titik asal}}{\text{Jarak tempuh pelarut dari titik asal}}$$

1.8. Spektrofotometri UV Sinar Tampak

Spektroskopi adalah studi mengenai interaksi antara energi (biasanya energi elektromagnetik) dengan suatu materi (Field,dkk,2008:1). Penyerapan sinar tampak oleh suatu molekul akan menyebabkan transisi di tingkat energi elektronik dari molekul (Panji,2012:5).

Istilah "spektroskopi UV" umumnya mengacu pada transisi elektronik yang terjadi di wilayah spektrum elektromagnetik (antara kisaran 200-380 nm)

diakses spektrometer UV standar. Transisi elektronik juga bertanggung jawab untuk penyerapan di daerah tampak (sekitar 380-800 nm). Spektrum UV digunakan untuk penentuan struktur yang selalu diperoleh dalam larutan (Field, dkk,2008:8). Alat ini terdiri dari sumber radiasi (lampu wolfram), monokromator, kuvet (tempat sampel), detektor, dan recorder (Krisnandi, 2002:52). Bagian spektrofotometer dapat terlihat pada **Gambar 1.5**



Gambar 1.5. Instrument spektrofotometer UV sinar tampak (Adam,2007:60)

Spektrofotometer UV sinar tampak merupakan alat yang dipakai untuk analisis kuantitatif dan kualitatif dengan pengukuran absorbansi untuk penetapan kadar suatu zat aktif. Spektrofotometer UV sinar tampak melibatkan energi elektronik yang cukup besar pada molekul yang dianalisis, sehingga lebih banyak dipakai untuk analisis kuantitatif dibandingkan kualitatif (Mulja dan Suharman,1995:40). Kegunaan utama spektrofotometri UV tampak adalah untuk identifikasi jumlah ikatan rangkap/ konjugasi aromatik (Panji, 2012:5).

Prinsip kerja spektrofotometri UV sinar tampak adalah menggunakan cahaya dari sumber cahaya dari sinar UV dan sinar tampak dengan pengaturan berkas cahaya menggunakan kromator. Berkas sinar selanjutnya masuk ke dalam sampel, sinar yang tidak diserap disebar oleh sampel dan akan masuk ke detektor dan diolah hingga muncul nilai absorbansi pada layar (Fessenden,1997:346).