

BAB I

TINJAUAN PUSTAKA

1.1 Sirih Hitam

Sirih hitam merupakan tumbuhan merambat dengan bentuk daun menyerupai hati dan bertangkai, tumbuh berselang-seling dari batangnya serta warna daun yang berwarna hijau tua kehitaman. Morfologi daun sirih hitam adalah batangnya bulat dan berwarna hijau gelap. Daun yang tumbuh subur berukuran rata-rata 5 cm dan 10 cm. Bila dipegang daun terasa tebal dan kaku.



Gambar I.1 Tanaman Sirih Hitam

Klasifikasi tumbuhan sirih hitam melalui proses identifikasi di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Bogor melalui Laboratorium Dendrologi dan menurut Cronquist (1981: hal 533) adalah sebagai berikut:

Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub kelas	: Magnoliidae
Bangsa	: Piperales

Suku : Piperaceae
Marga : *Piper*
Jenis : *Piper* sp.

1.2 Parameter Standar

Kontrol kualitas merupakan parameter yang digunakan dalam proses standarisasi suatu simplisia. Parameter standar simplisia dan ekstrak meliputi parameter non spesifik (kadar air, makroskopis, mikroskopis, susut pengeringan, bobot jenis, dan kadar abu) dan parameter spesifik (pengamatan organoleptik, kadar sari larut air dan kadar air larut kadar etanol).

Pengamatan makroskopis dan mikroskopik dilakukan pada daun segar dan simplisia daun sirsak. Pengamatan makroskopik dilakukan dengan melakukan melihat urat daun, ukuran, dan bentuk dari daun sirsak dan pengamatan mikroskopik dilakukan dengan mengamati sayatan melintang daun sirih hitam dan serbuk simplisia pada mikroskop.

Parameter kadar air adalah pengukuran kandungan kadar air yang berada di dalam bahan, dilakukan dengan cara filtrasi, destilasi, atau gravimetri. Tujuan dari penetapan parameter air yaitu untuk memberikan batasan minimal atau rentang besarnya kandungan air di dalam bahan (Depkes RI, 2000:13-17).

Parameter kadar abu diukur melalui pemanasan pada suhu yang menyebabkan senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan menguap, sehingga unsur mineral dan anorganik saja yang tertinggal. Tujuan penetapan parameter kadar abu yaitu memberikan gambaran kandungan mineral

internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya ekstrak (Depkes RI, 2000:13-17).

Parameter bobot jenis adalah masa per satuan volume pada suhu kamar tertentu yang ditentukan dengan alat khusus yaitu piknometer. Tujuan dari penetapan parameter bobot jenis yaitu memberikan batasan tentang besarnya masa per satuan volume yang merupakan parameter khusus ekstrak cair sampai ekstrak pekat (kental) yang masih dapat dituangkan dan memberikan gambaran kandungan kimia terlarut (Depkes RI, 2000:13-17).

Organoleptis bertujuan untuk pengenalan awal yang sederhana seobyektif mungkin (Depkes RI, 2000:31).

1.3 Antioksidan

Antioksidan merupakan substansi yang menghambat proses oksidasi. Antioksidan memiliki kemampuan dalam memberikan elektron, mengikat dan mengakhiri reaksi berantai radikal bebas yang mematikan. Berdasarkan sumbernya antioksidan dibagi dalam dua kelompok yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetik (Rohdianan, 2009:69).

Antioksidan alami dapat diperoleh dari hasil ekstraksi bahan alam yang diisolasi dari tumbuhan. Antioksidan alami tersebar pada bagian kayu, kulit kayu, akar, daun, buah, biji, dan serbuk sari. Antioksidan alami umumnya merupakan senyawa fenolik/polifenolik yang dapat berupa golongan flavanoid, dan yang memiliki efek antioksidan meliputi flavone, flavonol, flavanon, isoflavon, katekin, dan kalkon (Dröge, 2002:82).

Antioksidan sintetik merupakan antioksidan buatan dari sintesis reaksi kimia. Senyawa-senyawa yang termasuk antioksidan sintetik yaitu butil hidroksi anisol (BHA), butil hidroksi toluena (BHT), propil galat, ter-butil hidroksi kuinon (TBHQ), dan tokoferol (Dröge, 2002:47-97).

1.4 Radikal Bebas

Radikal bebas adalah atom atau gugus atom yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan. Radikal bebas merupakan molekul yang sangat reaktif karena memiliki elektron yang tidak berpasangan dalam orbital luarnya sehingga dapat bereaksi dengan molekul sel tubuh dengan cara mengikat elektron sel tersebut (Fessenden, 1997:346).

Secara umum radikal bebas dapat terbentuk melalui absorpsi radiasi atau melalui reaksi redoks. Radikal bebas yang terbentuk dari dalam tubuh (endogen) terbentuk dari sisa proses metabolisme (proses pembakaran) protein, karbohidrat, dan lemak pada mitokondria, proses inflamasi atau peradangan, reaksi antara logam transisi dalam tubuh. Sumber dari luar tubuh (eksogen) dapat berasal dari asap rokok, polusi lingkungan, radiasi, obat-obatan, pestisida, anestetik, limbah industri, ozon, serta sinar ultraviolet (Langseth, 1995:215).

Reaksi pembentukan radikal bebas melalui tiga tahapan reaksi (Langseth,1995:215):

- 1) Tahap inisiasi, merupakan tahapan awal yang menyebabkan terbentuknya radikal bebas.

- 2) Tahapan propagasi, merupakan tahapan pemanjangan rantai radikal bebas yang membuat radikal bebas cenderung bertambah banyak melalui reaksi rantai dengan molekul lain.
- 3) Tahapan terminasi, merupakan proses terjadinya reaksi radikal bebas dengan radikal bebas lain atau antara radikal bebas dengan penangkap radikal. Reaksi ini mengubah radikal bebas menjadi radikal bebas stabil dan tidak reaktif yang menyebabkan propagasinya rendah sehingga tidak ada radikal bebas baru yang terbentuk dalam tahapan ini dan rantai menjadi putus.

1.5 Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia perlu dilakukan untuk mengetahui komponen senyawa kimia tumbuhan yang memiliki aktivitas biologi. Metode yang digunakan untuk penapisan fitokimia yaitu dengan menambahkan pereaksi yang akan menghasilkan nilai positif berupa perubahan warna atau endapan. Penapisan fitokimia dilakukan terhadap senyawa kimia diantaranya alkaloid, flavonoid, kuinon, saponin, tanin, polifenolat, monoterpena/seskuiterpena dan triterpenoid/steroid. Alkaloid merupakan senyawa bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen (Harborne, 1987:234). Saponin merupakan glikosida triterpena yang bersifat seperti sabun, serta dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya membentuk busa, bersifat larut dalam air, dan menghemolisis darah (Harborne, 1987:151). Tanin merupakan senyawa polifenol yang dapat bereaksi dengan protein dan makromolekul seperti karbohidrat. Secara kimia

terdapat dua jenis tanin, yaitu tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi (Harborne, 1987:102-103). Triterpenoid/steroid merupakan senyawa yang mudah menguap dan berbau wangi yang terdapat pada bunga, daun, buah, dan akar (Harborne, 1987:147).

1.6 Metode Ekstraksi

Pengambilan bahan aktif dari suatu tanaman, dapat dilakukan dengan ekstraksi. Dalam proses ekstraksi ini, bahan aktif akan terlarut oleh zat pelarut yang sesuai sifat kepolarannya. Metode ekstraksi dipilih berdasarkan beberapa faktor seperti sifat dari bahan mentah obat, daya penyesuaian dengan tiap macam metode ekstraksi dan kepentingan dalam memproses ekstrak yang sempurna atau mendekati sempurna (Ansel, 1989:617).

Ekstraksi merupakan kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cairan penyari (Depkes RI, 2000:1). Bahan yang diekstraksi merupakan serbuk simplisia yang dibuat dengan peralatan tertentu (Depkes RI, 2000:9).

Metode-metode dalam ekstraksi yaitu maserasi, perkolasi, refluks, dan soxhlet. Maserasi merupakan proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada suhu ruangan (kamar). Perkolasi merupakan ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (*exhaustive extraction*) yang umumnya dilakukan pada suhu ruangan (Depkes RI, 2000:11).

Refluks merupakan ekstraksi dengan pelarut pada suhu titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Ekstraksi sinambung merupakan ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus yaitu soxhlet, sehingga terjadi ekstraksi yang *continue* dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Depkes RI, 2000:11).

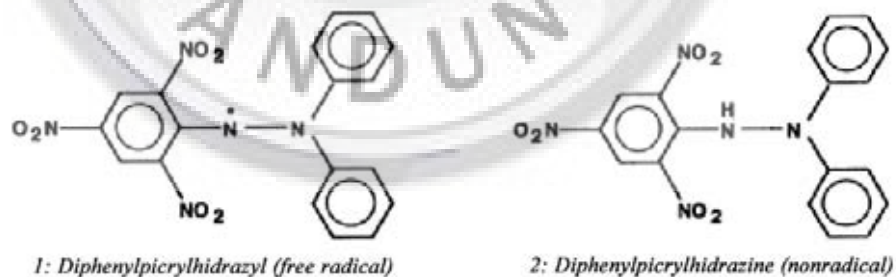
Teknik ekstraksi yang digunakan adalah ekstraksi bertingkat menggunakan pelarut organik secara bertingkat. Ekstraksi secara bertingkat dilakukan dengan menggunakan tiga pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda. Hal-hal yang perlu diperhatikan mengenai pelarut adalah pelarut polar akan melarutkan senyawa polar, pelarut organik akan cenderung melarutkan senyawa organik, dan pelarut air cenderung melarutkan senyawa anorganik dan garam dari asam ataupun basa. pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi adalah heksan, etil asetat, dan etanol yang ketiganya berturut-turut merupakan senyawa nonpolar, semi polar, dan polar (Satjaji, Latif dan I.Gray 2005:7).

Cara melakukan ekstraksi bertingkat diawali menggunakan pelarut dengan sifat nonpolar yaitu n-heksana, selanjutnya diperoleh ekstrak n-heksana dan ampasnya. Ampas dari hasil ekstrak tersebut di ekstraksi kembali dengan pelarut yang bersifat semipolar yaitu etil asetat, selanjutnya diperoleh ekstrak etil asetat dan ampasnya. Kemudian ampas dari hasil ekstrak tersebut di ekstraksi kembali dengan pelarut bersifat polar yaitu etanol, selanjutnya diperoleh ekstrak etanol dan ampas (Satjaji, Latif dan I.Gray 2005:7). Ketiga hasil ekstraksi dengan pelarut berbeda itu yang selanjutnya akan digunakan pengujian pada penelitian ini.

1.7 DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)

Pengujian dengan cara direndamkan ke dalam larutan DPPH dalam keadaan gelap, kemudian di ukur absorbansi dengan spektrofotometer. Selanjutnya ditentukan harga IC_{50} , yakni konsentrasi larutan uji yang memberikan peredaman DPPH sebesar 50%. Harga IC_{50} umum digunakan untuk menyatakan aktivitas antioksidan suatu bahan uji dengan metode peredaman radikal bebas DPPH (Molyneux, 2004:212).

Radikal bebas yang umumnya digunakan sebagai model dalam penelitian antioksidan atau peredam radikal bebas adalah 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). Metode dengan DPPH merupakan metode yang sederhana, cepat, dan mudah untuk penapisan aktivitas penangkapan radikal beberapa senyawa. Selain itu metode ini terbukti akurat, dapat diandalkan dan praktis (Molyneux, 2004:212).



Gambar I.2. Struktur DPPH (Philip Molyneux,2004:212)

1.8 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis ialah metode pemisahan fitokimia, Lapisan yang memisahkan, yang terdiri atas bahan sebutir-butir (fasa diam), ditempatkan pada

penyangga berupa pelat gelas, logam, atau lapisan yang cocok. Campuran yang akan dipisahkan, berupa larutan, ditotolkan berupa bercak atau pita. Setelah pelat atau lapisan ditaruh didalam bejana tertutup rapat yang berisi larutan pengembang yang cocok (fasa diam), pemisahan terjadi selama perambatan kapiler (pengembangan). Selanjutnya, senyawa yang tidak berwarna harus ditampakkan (dideteksi) (Stahl, 1985:40).

Kromatografi lapis tipis (KLT) digunakan untuk memisahkan senyawa-senyawa yang sifatnya hidrofob seperti lipida-lipida dan hidrokarbon. Penggunaan KLT adalah untuk memantau senyawa-senyawa kimia secara kualitatif. Tujuan utama KLT pada penelitian flavonoid adalah mengidentifikasi senyawa flavonoid dan isolasi flavonoid secara cepat dalam skala kecil. Sebagai fasa diam digunakan senyawa yang tidak bereaksi seperti silika gel atau alumin. Kelebihan KLT adalah keserbagunaan, kecepatan, dan kepekaannya (Stahl, 1985:40).

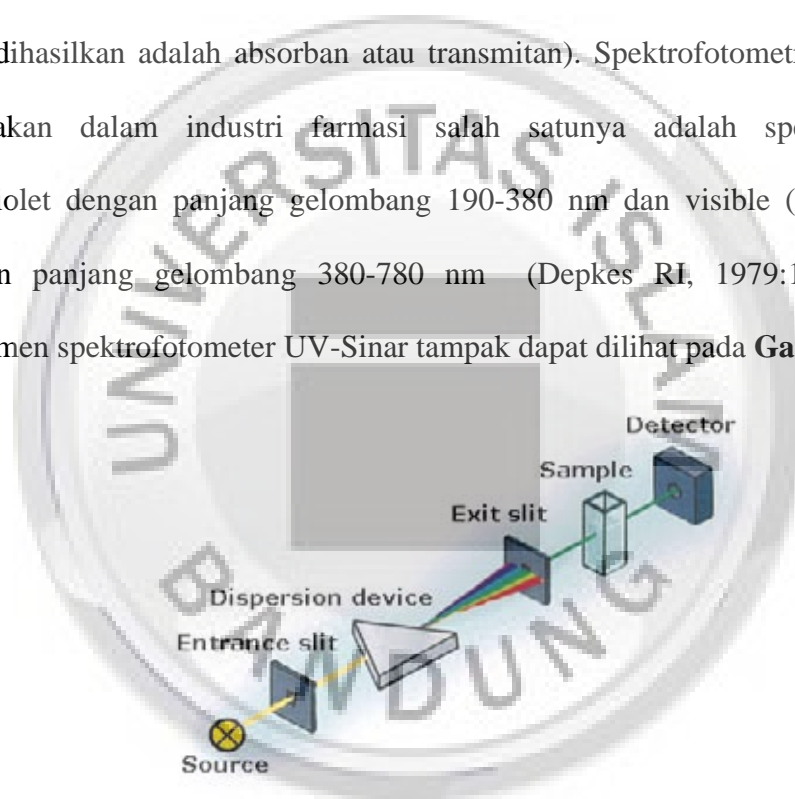
Jarak pengembangan senyawa pada kromatogram biasanya dinyatakan dengan angka Rf atau hRf.

$$Rf = \frac{\text{Jarak yang ditempuh oleh komponen}}{\text{Jarak yang ditempuh oleh pelarut}} \quad (1)$$

Nilai Rf dinyatakan hingga 1,0. Nilai Rf yang baik yang menunjukkan pemisahan yang cukup baik berkisar antara 0,2-0,8. Angka Rf berjangka antara 0,00 dan 1,00 dan hanya dapat ditentukan dua desimal. hRf ialah angka Rf dikalikan faktor 100 (h). Menghasilkan nilai berjangka 0 sampai 100 (Stahl, 1985:49).

1.9 Spektrofotometri UV Sinar Tampak

Prinsip kerja spektrofotometer UV-Vis yaitu sinar dari sumber sinar adalah sinar polikromatis, dilewatkan melalui monokromator, kemudian sinar monokromatis dilewatkan melalui kuvet yang berisi sampel maka akan menghasilkan sinar yang ditransmisikan dan diterima oleh detektor untuk diubah menjadi energi listrik yang kekuatannya dapat diamati oleh alat pembaca (satuan yang dihasilkan adalah absorban atau transmittan). Spektrofotometri yang sering digunakan dalam industri farmasi salah satunya adalah spektrofotometri ultraviolet dengan panjang gelombang 190-380 nm dan visible (sinar tampak) dengan panjang gelombang 380-780 nm (Depkes RI, 1979:147). Gambar Instrumen spektrofotometer UV-Sinar tampak dapat dilihat pada **Gambar I.3.**



Gambar I.3. Skema Spektrofotometri UV-Cahaya tampak (Allen, 2000)

Mekanisme Spektrofotometer UV-Sinar tampak yaitu cahaya saat mengenai larutan bening akan mengalami 2 hal yaitu, transmisi yang merupakan nilai dari transmitansi berbanding terbalik dengan absorbansi, dan absorbansi yang merupakan cahaya yang akan diserap jika energi cahaya tersebut sesuai dengan energi yang dibutuhkan untuk mengalami perubahan dalam molekul.