BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Kratom (*Mitragyna speciosa* Korth.)

1. Klasifikasi Tanaman

Klasifikasi tanaman kratom adalah sebagai berikut :

Kerajaan : Plantae

Filum : Tracheophyta

Kelas : Magnoliopsida

Bangsa : Gentianales

Suku : Rubiaceae

Marga : *Mitragyna* Korth.

Jenis : *Mitragyna speciosa* (Korth.)

Kratom (*Mitragyna speciosa* Korth.) tumbuh tersebar di wilayah Asia Tenggara seperti Thailand, Malaysia, Filipina, Kamboja, Vietnam, Papua Nugini dan Indonesia (Mukhlisi et al., 2018). Di Indonesia sendiri kratom tersebar di pulau Sumatera, Kalimantan dan wilayah Papua. Kratom (*Mitragyna speciosa* Korth.) dijuluki *daun surga dari Kalimantan*. Tumbuhan ini banyak ditemukan di Kalimantan Barat, terutama di Kabupaten Kapuas Hulu. Di Kapuas Hulu, kratom banyak ditanam masyarakat di halaman, namun untuk budidaya skala luas dilakukan di kebun dan di lahan dekat sungai. Sebutan untuk daun kratom di Indonesia berbeda–beda disetiap daerah, di Putussibau Kalimantan Barat kratom dikenal dengan sebutan daun purik. Nama lain dari tanaman kratom

(*Mitragyna speciosa* Korth.) di Thailand adalah Krathom, kakuam, ithang, sapat, atau thom. Di Filipina dikenal dengan mambog, sedangkan di Malaysia dikenal dengan biak-biak atau ketum. Kratom terdiri atas tiga jenis, yaitu kratom hijau, merah, dan putih. Tanaman ini biasa di seduh sebagai teh herbal yang dimanfaatkan oleh masyarakat untuk mengobati diare, sakit perut, dan berbagai penyakit lainnya. Di Thailand, kratom telah digunakan secara turun-temurun sebagai antidiabetes (Firmansyah et al., 2021).

2. Morfologi

(a) (b)

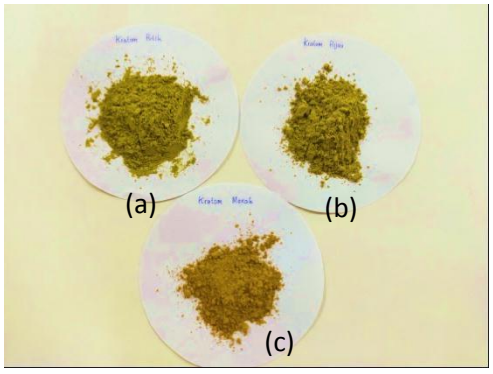
Gambar 2.1 (a) Tanaman Kratom (b) Daun Tanaman Kratom
(Sumber : Dokumen Pribadi)

Pohon kratom dapat tumbuh hingga ketinggian normal 4 sampai 9 meter dengan lebar mencapai hingga 5 meter. Adapun bentuk batang dari tanaman kratom yaitu tegak dan bercabang dengan daunnya berwarna hijau gelap mengkilap, serta tumbuh dengan panjang hingga melebihi 18 cm dan lebarnya mencapai 10 cm dengan bentuk oval dan ujungnya meruncing. Bunga pohon kratom berwarna kuning tua dan tumbuh dalam bentuk gugus bola melekat pada bagian atas daun pada batang panjang. Daun tanaman kratom gugur berlimpah pada saat musim kemarau dan

pertumbuhan daun baru akan dihasilkan pada musim hujan. Pohon kratom tumbuh paling baik pada lahan yang cenderung basah atau lembab dengan tanah yang memiliki tingkat kesuburan yang baik serta media paparan sinar matahari yang penuh dan didaerah yang terlindungi dari angin kencang (Hassan et al., 2013).

Daun kratom berbentuk elips hingga bulat telur (oval), memiliki ukuran 10-20 x 7-12 cm, memiliki tulang daun sekunder yang tampak dengan jelas berjumlah 12 sampai dengan 17 pasang. Adapun warna daun tanaman kratom adalah berwarna hijau dan cenderung lebih muda serta kontras dibandingkan dengan warna hijau dari daun tanaman lain di sekitarnya. Tekstur daunnya seperti kertas, dengan pangkal daun bulat atau berbentuk seperti hati dan ujung daun yang berbentuk lancip. Permukaan atas daun tidak berambut, sedangkan permukaan bawah tepatnya pada tulang daun utama dan urat daun lateral memiliki sedikit rambut. Pada umumnya warna tulang dan urat daun tanaman kratom berwarna coklat pucat ataupun coklat kemerahan, tetapi terdapat pula beberapa jenis kratom yang warna tulang dan urat daunnya berwarna hijau (Wahyono et al., 2019). Berdasarkan urat tulang atau venanya maka daun kratom terbagi menjadi 3 variasi yaitu kratom vena hijau, vena merah dan kratom vena putih (Warner et al., 2015).

3. Olahan Daun Kratom



Gambar 2.2 (a) Serbuk Daun Kratom Putih, (b) Serbuk Daun Kratom Hijau, (c) Serbuk Daun Kratom Merah
(Sumber : Dokumen Pribadi)

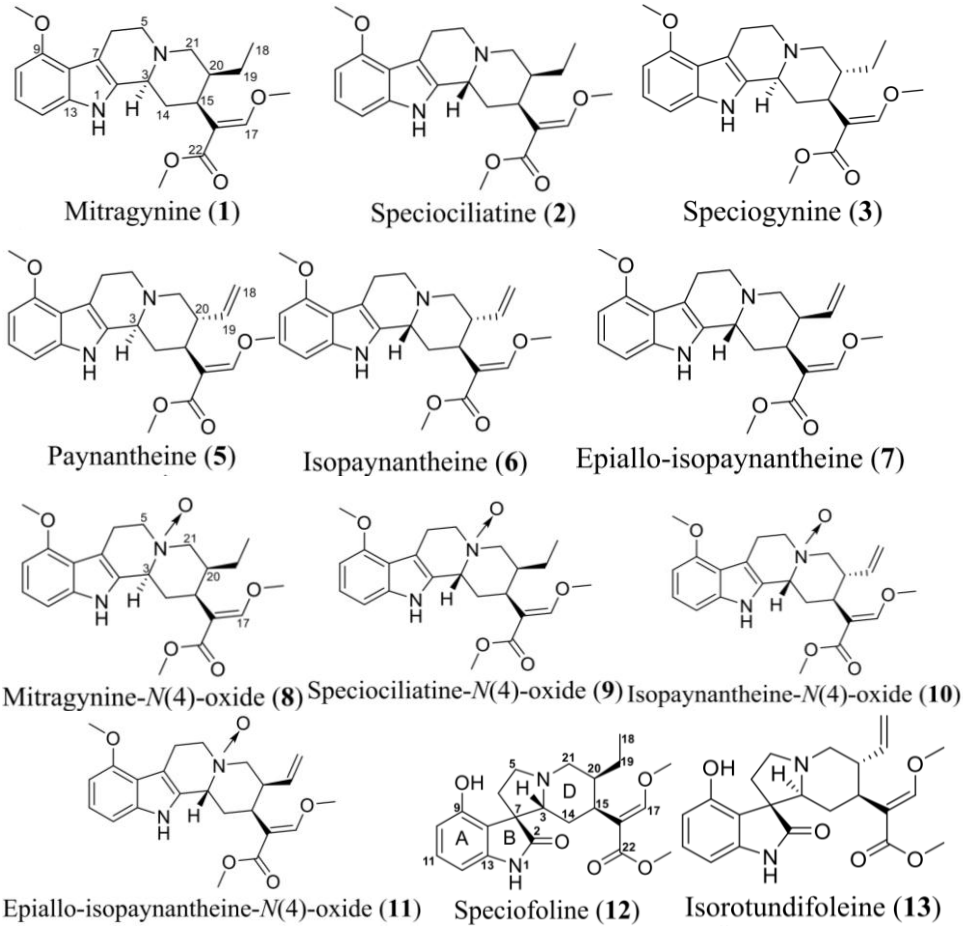
Hasil panen dari petani kratom yang biasanya dijual berupa daun segar, remahan dan tepung (serbuk). Kratom berupa remahan dan tepung perlu ditangani pasca panen yang terdiri dari proses sortasi, pencucian, penjemuran dan perubahan bentuk. Remahan atau tepung kratom yang dihasilkan masyarakat secara umum terdiri dari 2 jenis, yaitu tepung kratom berwarna coklat agak kemerahan dan tepung kratom hijau. Daun hasil panen disortasi, dicuci, lalu ditiriskan, kemudian dikeringkan, untuk menghasilkan tepung berwarna hijau. Remahan dan tepung kratom berwarna coklat kemerahan didapatkan dengan memfermentasi daun, dengan cara memasukan ke dalam kantong plastic yang transparan dan ditutup rapat, lalu dibiarkan selama 4 hari. Daun kratom dikeluarkan dari kantong plastik lalu ditebar merata di atas rak penjemuran setebal + 5 cm sampai kering kurang lebih 4-5 hari (Wahyono et al., 2019).

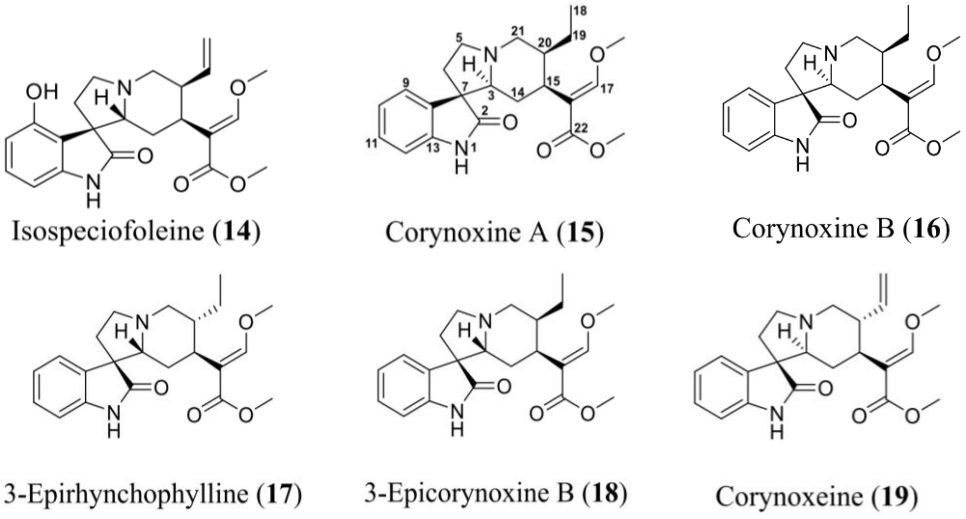
Remahan dapat dibuat dengan cara manual maupun menggunakan mesin. Secara manual dapat dilakukan dengan cara menggosok-gosokan daun kratom pada alas rak penjemuran yang biasanya berupa jaring-jaring sehingga ukuran menjadi lebih kecil, lalu ditampi terlebih dahulu untuk memisahkan bagian tulang daun dengan remahan daunnya, kemudian bagian tulang daun selanjutnya dibuang. Tepung kratom dibuat dengan cara menggiling remahan kratom dan selanjutnya dilakukan pengayakan atau diayak. Remahan maupun tepung selanjutnya ditempatkan di wadah yang kedap udara (Wahyono et al., 2019).

4. Kandungan Kimia

Penelitian Yuniarti & Nadia (2020), menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kratom mengandung alkaloid, flavonoid, triterpenoid, steroid, saponin, dan tanin. Senyawa mitraginin dalam kratom memiliki sifat sebagai antinosiseptif (Shamima et al., 2012). Kandungan kimia utama dari daun kratom ialah alkaloid, yaitu mitragin (66,2%) dan 7-hidroksimitraginin (2,0%). Kedua senyawa tersebut merupakan senyawa alkaloid indol, karena mempunyai struktur bisiklik yang tersusun dari cincin segilima dan inti pirol (Kikura-Hanajiri et al., 2009). Terdapat 19 senyawa alkaloid yang berhasil di isolasi dan di karakterisasi dari tanaman kratom. Alkaloid tersebut sebagian besar merupakan alkaloid indol dan alkaloid oxiindol serta beberapa senyawa nya yang saling berdiastreomer. Senyawa yang termasuk alkaloid indol yaitu mitragin **(1)**, speciociliatin **(2)**, spekiogini **(3)**, dan mitraciliatin **(4)**, indol paynanthein **(5)**,

isopaynanthein **(6)**, dan epiallo-isopaynanthein **(7)**, N(4)-oksida mitragin-N(4)-oksida **(8)**, speciociliatin-N(4)-oksida **(9)**, isopaynanthein-N(4)-oksida **(10)**, epiallo-isopaynanthein-N(4)-oksida **(11)**. Adapun senyawa yang termasuk alkaloid oxindol yaitu 9-hidroksilasi speciofolin **(12)**, isorotundifolein **(13)**, isospesiofolein **(14)**; dan 9-oksindol corynoxine A tak tersubstitusi **(15)**, corynoxine B **(16)**, 3-epirhynchophylline **(17)**, 3-epikorinoksin B **(18)**, dan corynoxeine **(19)** (bocanegara *et al.*, 2020; kamble *et al.*, 2021; Oliveira et al., 2016; Philippa *et al.*, 2011).





Gambar 2.3 Struktur Senyawa Alkaloid yang Berhasil Diisolasi dan Dikarakterisasi dari Daun Kratom

5. Efek farmakologi

Daun kratom mempunyai efek farmakologi seperti opium yaitu memberi efek stimulan untuk melawan rasa letih dan meningkatkan daya tahan terhadap sinar matahari. Daun kratom bila digunakan dalam dosis rendah (2-10 gram) bisa memberikan efek stimulan, sementara penggunaan dalam dosis yang lebih tinggi akan memberikan efek seperti opium, efek penenang, dan euphoria (Arsita, 2019).

Kajian efek farmakologi terhadap daun kratom ditemukan bahwa daun kratom memiliki efek sebagai analgetik, antipiretik (Reanmongkol *et al.*, 2007), penenang (Ceaha et.al., 2015), stimulan (Griffin, 2018), antiinflamasi (Tohar et.al., 2019), antioksidan (Yuniarti & Nadia, 2020), dan antimikroba (Suhaimi, 2019). Kratom mengandung lebih dari 40 jenis alkaloid, diantaranya mitragin (66,2%) dan turunannya, spesioginin

(6,6%), spesiosilitin (0,8%), painanten (8,6%), 7-hidroksimitraginin (2%) (Firmansyah et al., 2021). Senyawa mitraginin dalam kratom memiliki sifat sebagai antinosiseptif (Shamima et al., 2012). Mitraginin juga memiliki kemampuan sebagai antioksidan, anti jamur, antibakteri dan antidiabetes (Warner et al., 2015).

Di Indonesia, secara tradisional kratom digunakan untuk menambah stamina, mengatasi nyeri, rematik, asam urat, hipertensi, gejala stroke, diabetes, susah tidur, luka, diare, batuk, kolesterol, tipus, juga digunakan untuk menambah nafsu makan (Wahyono et al., 2019). Penggunaan kratom di Kecamatan Putussibau Utara dan Embaloh Hilir dipercaya oleh masyarakat setempat memiliki manfaat dalam mengatasi nyeri, rematik, asam urat, hipertensi, gejala stroke, diabetes, susah tidur, luka, diare, batuk, kolesterol, tipes, menambah stamina, dan menambah nafsu makan. Cara penggunaannya yaitu dengan cara menyiapkan ramuan dengan merebus daun segar maupun serbuk kemudian diminum langsung. Beberapa masyarakat setempat juga menambahkan madu dan air jeruk, atau hanya menambahkan air jeruk. Adapun penggunaan topikal untuk mengobati luka dilakukan dengan cara meremas daun kratom segar lalu ditempelkan pada luka, atau serbuk halus daun kratom ditaburkan langsung pada bagian luka (Wahyono et al., 2019).

Kratom secara tradisional digunakan di Thailand dan Malaysia sebagai herbal yang dipercaya memiliki khasiat mengurangi rasa nyeri, relaksasi, mengatasi diare, menurunkan panas, dan mengurangi kadar gula

darah (Veltri and Grundmann, 2019). Pengguna kratom di Thailand menyatakan bahwa selain memberikan efek stimulan, mengkonsumsi kratom juga dapat menghasilkan perasaan senang (Hayden, 2018). Di Thailand, pengguna kratom umumnya lebih suka mengunyah langsung daun kratom segar, sebagian lainnya mengkonsumsi dengan cara meremas daun kratom yang sudah dikeringkan hingga menjadi remahan kemudian dikunyah lalu ditelan menggunakan air. Efek stimulan yang ditimbulkan dari mengunyah kratom akan mulai terasa antara 5-10 menit kemudian. Cara penggunaan kratom oleh masyarakat Thailand lainnya ialah dengan merebus daun kering sampai kental seperti sirup kemudian dicampur dengan daun palem halus hingga terbentuk pil. Pil ini dapat dikonsumsi dengan ditelan dan dihisap. Berbeda dengan di Thailand, beberapa pengguna kratom di Malaysia mengunakan pil tersebut sebagai rokok dengan meletakkan pil ke dalam pipa bambu panjang dan mereka menyebutnya madatin (Hayden, 2018). Beberapa sumber di Malaysia melaporkan bahwa penggunaan kratom dalam bentuk lintingan daun kering kemudian dibakar dan dihisap akan memberikan efek relaksasi (Veltri & Grundmann, 2019).

Konsumsi kratom di Amerika Serikat umumnya dalam bentuk cairan dan diminum. Beberapa orang juga menggunakan serbuk kratom dengan menambahkan kedalam makanan atau minuman. Saat ini, penggunaan serbuk kratom yang lebih popular yaitu dalam bentuk sediaan kapsul. Di Amerika sendiri kratom dijual melalui internet, toko herbal,

dan toko tembakau/rokok sebagai obat atau suplemen herbal yang bermanfaat untuk mengobati berbagai penyakit seperti nyeri, gangguan mental, dan menghentikan kecanduan opioid. Kratom juga seringkali dipromosikan sebagai "*herbal speedball*" legal dan alami, serta alternatif sebagai opioid tradisional (Wahyono et al., 2019). Beberapa efek farmakologi kratom dapat dilihat pada Tabel 2.1 dibawah ini.

Tabel 2.1
Beberapa Penelitian terkait Efek Farmakologi Kratom (M. speciosa Korth)

No.	Sampel	Efek Farmakologi	Sumber
1.	Ekstrak kratom dan mitraginin	Efek Antinoseptif mitraginin setara dengan opium	Carpenter et al. (2016)
2.	Fraksi etil asetat	Efek sitotoksik sedang terhadap sel kanker payudara T47D	Ikhwan et al. (2018)
3.	Ekstrak daun kratom	Ekstrak Kratom mengurangi kontraksi otot di frenikus, yang mengurangi hemidiafragma saraf frenikus yang menyebabkan relaksasi otot	Azizi et al. (2013)
4.	Ekstrak kratom	Ditemukan korelasi kandungan fenolik dengan aktivitas antioksidan	Parthasarathy et al. (2009)
5.	Ekstrak etanol daun kratom	Efek antioksidan kuat	Yuniarti & Nadia, (2020)
6.	Ekstrak methanol daun kratom	Efek Anti diare	Suhaimi & Kartikasari, (2020)
7.	Ekstrak n-heksan daun kratom	Efek sebagai obat penenang	Anna Hidayati, (2013)
8.	Fraksi etil asetat daun kratom	efek antikanker	Ikhwan et al. (2018)

B. Antioksidan

Antioksidan merupakan suatu inhibitor yang digunakan untuk menghambat terjadinya autooksidasi. Mekanisme kerja dari inhibitor radikal bebas adalah menghambat suatu reaksi radikal bebas dengan cara membentuk reaksi radikal bebas tak reaktif dan cenderung stabil (Haeria et al., 2016). Antioksidan merupakan molekul yang mampu menghambat reaksi oksidasi dari molekul lain. Antioksidan dikategorikan menjadi :

1. Antioksidan endogen

   Antioksidan endogen pada dasarnya merupakan enzim yang secara katalitik berperan menghilangkan oksidan. Antioksidan endogen mayor yaitu superoksida dismutase, superoksida reduktase, katalase, dan glutation peroksidase. Enzim ini memainkan peran yang paling penting dalam mengurangi kandungan oksidan dan mencegah terjadinya kerusakan oksidatif.

2. Antioksidan eksogen

   Antioksidan eksogen contohnya seperti vitamin E (Tokoferol).

3. Antioksidan dari tanaman

   Tanaman menghasilkan banyak sekali antioksidan untuk mengendalikan stress oksidatif yang disebabkan oleh pengaruh buruk sinar matahari dan oksigen dan dapat menjadi sumber dari senyawa baru yang memiliki aktivitas antioksidan (Haerani et al., 2018).

Aktivitas antioksidan dapat diketahui dengan nilai IC_{50}, semakin rendah nilai IC_{50} maka aktivitas antioksidannya semakin tinggi.

Ada tiga mekanisme kerja antioksidan pada radikal bebas, yaitu:

1. Antioksidan primer yang dapat mengurangi dismutase (SOD), glutation peroksidase, dan katalase stabil.
2. Antioksidan sekunder yaitu pembentukan radikal bebas baru dengan memutus reaksi berantai dan memiliki berperan mengikat radikal bebas serta mencegah amplifikasi senyawa radikal. Contoh : vitamin A (betakaroten), vitamin C, vitamin E, dan senyawa fitokimia.
3. Antioksidan tersier, memiliki peranan dalam mekanisme biomolekuler, seperti memperbaiki kerusakan sel dan jaringan yang disebabkan radikal bebas (Rahmi, 2017).

C. Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan suatu atom atau molekul yang bersifat tidak stabil dan sangat reaktif. Radikal bebas akan berikatan dengan senyawa-senyawa lain disekitarnya guna mencapai kestabilan. Suatu molekul yang elektronnya terambil akan berubah menjadi radikal bebas sehingga menyebabkan terjadinya reaksi berantai yang pada akhirnya akan menyebabkan kerusakan pada sel tersebut (Rohmatussolihat, 2015). Berbagai penyakit dapat ditimbulkan apabila hal ini tidak dihentikan seperti penyakit penuan dini, katarak, kanker, jantung dan penyakit degeneratif lainnya (Sinaga, 2016).

Radikal bebas dihasilkan karena beberapa faktor, seperti polusi, debu, asap, kebiasaan mengkonsumsi makanan cepat saji yang diketahui tidak seimbang karbohidrat, protein dan lemaknya (Rahmi, 2017).

Radikal bebas terdiri atas *Reactive Oxigen Species* (ROS), *Radical Nitrogen Species* (RNS), serta radikal-radikal lainnya. ROS atau yang dikenal dengan radikal oksigen. Ada juga radikal lainnya seperti radikal thiil (RS). Radikal bebas dapat ditangkap dengan menggunakan 2,2'-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) (Salamah et al., 2015).

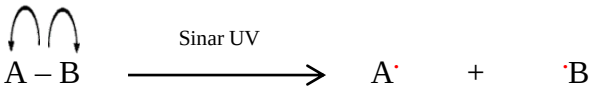
Spesies oksigen reaktif (ROS) merupakan sumber dari berbagai penyakit dan komplikasi pada manusia. Stress oksidatif yang terjadi akibat ketidakseimbangan antara pembentukan ROS dengan antioksidan dalam tubuh akan menyebabkan kerusakan pada sel dan gangguan terhadap enzim metabolik, lipid, protein, dan DNA (Forman & Zhang, 2021; Raza et al., 2017). Stress oksidatif menjadi pemicu berbagai kondisi patologis seperti obesitas, hipertensi, aterosklerosis, dan diabetes melitus (Forman & Zhang, 2021; Liguori et al., 2018).

ROS secara aktif dapat memengaruhi modifikasi protein dan asam nukleat melalui produksi MAD. Interaksi antara MAD dan sisi amino dari rantai apoprotein B 100 akan membentuk epitop baru yang tidak dikenal oleh reseptor LDL. Oxidatively modified LDL (OxLDL) yang terbentuk tidak lagi dianggap menjadi milik sendiri (*self*) melainkan menjadi milik luar (*nonself*), kemudian akan diingesti oleh monosit atau makrofag menjadi *foam cell* yang berada di intima pembuluh darah. *Foam cell* yang telah terbentuk akan memanggil monosit atau makrofag lain untuk berubah bentuk juga menjadi *foam cell* yang lebih banyak. Akumulasi dari banyaknya *foam cell* di bawah jaringan endotelium ini akan memicu terbentuknya lapisan lemak yang

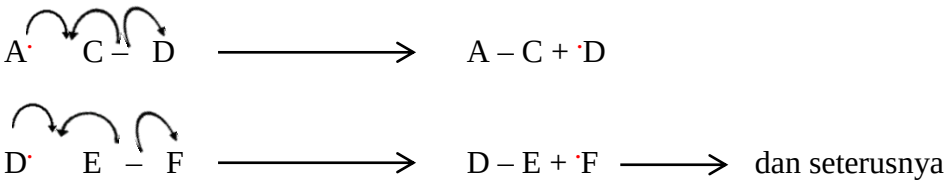
menjadi gambaran histopatologi terbentuknya plak aterosklerosis (Nisa Berawi dan Theodora Agverianti et al., 2017).

Tahapan dalam pembentukan radikal bebas terjadi dalam 3 tahap, yaitu inisiasi, propagasi dan terminasi. Tahapan inisiasi adalah langkah pertama terbentuknya spesies radikal. Tahap inisiasi merupakan peristiwa pembelahan homolitik ikatan kovalen dalam suatu molekul yang jarang terjadi dikarenakan adanya hambatan energi. Biasanya tahapan ini terbentuk karena pengaruh beberapa hal seperti, suhu tinggi, UV ataupun katalis yang mengandung logam digunakan sebagai penghalang energi. Tahapan propagasi merupakan bagian 'rantai' dari reaksi berantai. Ketika radikal bebas yang bersifat reaktif dihasilkan maka akan memicu untuk bereaksi dengan molekul yang stabil dan membentuk radikal bebas yang baru, hal ini berlangsung terus menerus dan menghasilkan banyak radikal bebas. Sementara tahapan terminasi ialah tahapan ketika reaksi radikal akan berhenti jika dua radikal saling bereaksi dan menghasilkan suatu spesies non radikal atau stabil (Labola & Puspita, 2018).

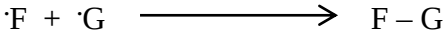
1. Tahap Inisiasi



2. Tahap Propagasi



3. Tahap Terminasi

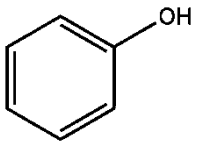


Gambar 2.4 Reaksi Berantai Tahap Inisiasi, Propagasi, dan Terminasi

D. Fenol

Komponen tanaman yang sangat penting dalam hal menangkap senyawa radikal bebas karena adanya peran dari gugus hidroksilnya ialah senyawa fenolik. Kelompok senyawa fenolik terbesar yang memiliki kemampuan antioksidan ialah flavonoid, fenol dan tanin (Supriatna et al., 2019).

Senyawa fenol merupakan senyawa yang berasal dari tumbuhan dan mempunyai ciri khas yaitu struktur yang berbentuk cincin aromatik dengan satu atau dua gugus hidroksil. Senyawa fenol memiliki aktivitas antioksidan, antiviral, antitumor, dan antibiotik. Fenol berdasarkan strukturnya dapat dibagi menjadi dua kelompok, yaitu fenol sederhana (resorsinol, hidroquinon, dan katekol), dan fenol komplek (polifenol) seperti lignin, melanin, flavonoid, dan tanin (Berliansyah et al., 2021).

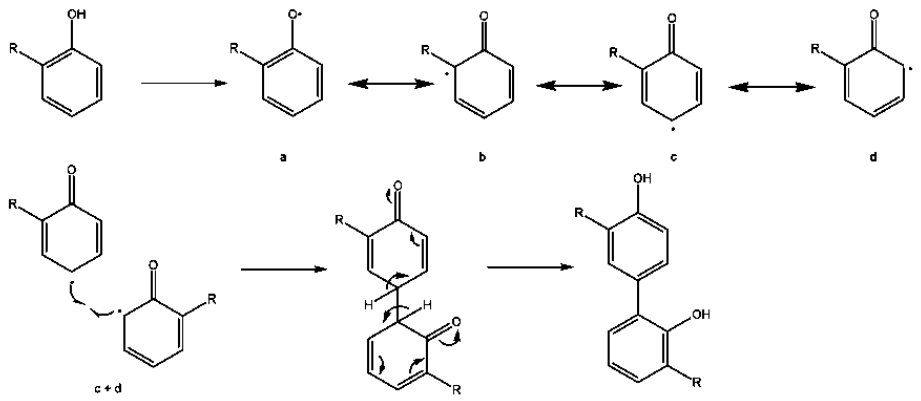


Gambar 2.5 Struktur Fenol

Sifat fisik dan karakteristik dari senyawa fenol adalah senyawa fenol dapat membentuk ikatan hidrogen, karena adanya ikatan hidrogen ini, maka fenol mempunyai titik didih yang lebih tinggi dari senyawa lain yang mempunyai berat molekul yang sama. Sifat fisiknya dipengaruhi oleh gugus

hidroksil, dimana hal ini memungkinkan fenol membentuk ikatan hidrogen dengan molekul fenil lainnya atau air (Hadanu, 2019).

Senyawa fenol yang tersubstitusi dapat dijadikan sebagai antioksidan dan biasanya digunakan untuk mencegah reaksi dari radikal-radikal bebas. Dalam industri makanan, fenol yang tidak beracun dipakai sebagai radikal inhibitor disebut zat pengawet. Fenol adalah antioksidan yang efektif karena dapat bereaksi dengan radikal intermediet menghasilkan radikal fenolik yang stabil dan tidak reaktif. Pembentukan radikal yang tidak reaktif ini mengakhiri proses oksidasi radikal yang tidak dikehendaki (Hadanu, 2019).



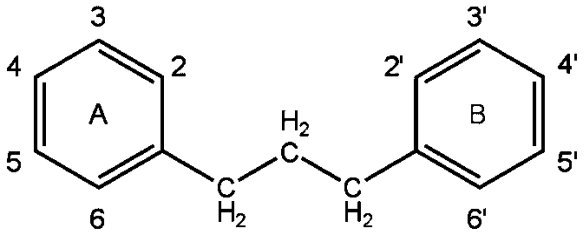
Gambar 2.6 Reaksi Penggabungan dan Pembentukan Radikal Fenoksil (Bruneton, 1999).

E. Flavonoid

Flavonoid merupakan kelompok besar fitokimia yang memiliki sifat melindungi serta banyak terdapat pada buah-buahan dan sayuran. Banyaknya senyawa flavonoid ini karena banyaknya jenis tingkat hidroksilasi, alkoksilasi dan glikosilasi pada strukturnya (Maharani et al., 2019). Flavonoid juga sering kali dikenal sebagai bioflavonoid yang berperan sebagai antioksidan.

Flavonoid merupakan bagian dari senyawa fenolik yang terdapat pada pigmen tumbuh-tumbuhan (Cikita et al., 2016).

Asam amino aromatik serperti fenilalanin, tirosin dan malonat adalah pembentuk senyawa flavonoid dalam tumbuhan. Dalam tumbuhan, aglikon flavonoid atau flavonoid dengan tanpa gula terikat, terdapat dalam berbagai struktur. Akan tetapi, semuanya strukturnya mengandung 15 atom karbon dalam inti dasarnya, yang tersusun dalam konfigurasi C6 - C3 -C6 yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh satuan tiga karbon yang dapat ataupun tidak dapat membentuk suatu cincin ketiga. Flavonoid dalam tumbuhan hampir tidak pernah ditemukan dalam bentuk tunggal tetapi ditemukan dalam bentuk campuran. Flavonoid adalah golongan senyawa yang memiliki sifat larut dalam air dan flavonoid dalam tumbuhan terikat sebagai glikosida dan aglikon (Haeria et al., 2016).



Gambar 2.7 Struktur Umum Flavonoid

F. Pengujian Kadar Fenol Total

Dalam menghitung kadar fenol total menggunakan pereaksi Folin-Ciocalteu terdapat tiga langkah, yaitu penetapan waktu optimum dan serapan maksimum standart (asam galat), pembuatan kurva kalibrasi standart (asam galat) dan pengukuran panjang gelombang sampel.

Kandungan fenol total dari sampel yang memiliki aktivitas antioksidan dapat diketahui dengan cara mengukur kapasitas reduksi dengan menggunakan reaksi Folin-Ciocalteu menggunakan spektrofotometer Uv-Vis. Untuk mengukur kadar fenol total yang berasal dari produk alami metode analisis ini merupakan metode yang termudah dan umum digunakan (Barki et al., 2017). Senyawa fenol akan mereduksi fosfomolibdat fosfotungstat dalam Folin-Ciocalteu membentuk molibdenum berwarna biru (Berliansyah et al., 2021).

Pereaksi Folin-Ciocalteu merupakan larutan kompleks yang dibuat dari asam heteropolifosfatungstat dan asam fosfomolibdat. Asam-asam tersebut tersusun dari beberapa komponen yaitu, natrium molibdat, natrium tungstat, air, bromin, litium sulfat, asam klorida serta asam fosfat. Oksidator fosfomolibdat akan bereaksi terhadap senyawa fenolik dan akan menghasilkan kompleks molybdenum-tungsten dan senyawa fenolat berwarna biru. Tingginya kandungan senyawa fenol dalam suatu sampel ditandai dengan semakin pekatnya warna yang dihasilkan. Prinsip metode Folin-Ciocalteu adalah reaksi reduksi dan oksidasi kolorimetrik yang bertujuan untuk mengukur semua senyawa fenolik (Adawiah et al., 2015).

G. Hubungan Kadar Fenol dengan Aktivitas Antioksidan

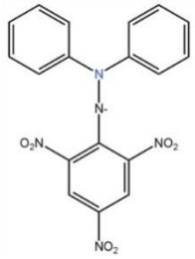
Dalam penelitian oleh Parthasarathy et al., (2009) ada bukti korelasi yang baik antara kandungan fenolik dari ekstrak yang berbeda (R^2= 0,9833) dan nilai IC_{50} DPPH dari setiap ekstrak. Hasil ini sejalan dengan temuan

beberapa penelitian lain yang juga melaporkan adanya korelasi antara kandungan total fenolik dan aktivitas antioksidan IC_{50}.

Senyawa fenolik dapat mempengaruhi konsentrasi DPPH (*diphenylpicrylhydrazyl*) karena senyawa fenolik mampu mendonorkan atom hidrogen kepada radikal bebas yang dapat menstabilkan senyawa DPPH tereduksi. Semakin tinggi senyawa fenolik maka akan semakin banyak radikal bebas yang bereaksi sehingga menyebabkan konsentrasi radikal bebas menurun dan aktivitas antioksidan menjadi semakin tinggi (Adawiah et al., 2015).

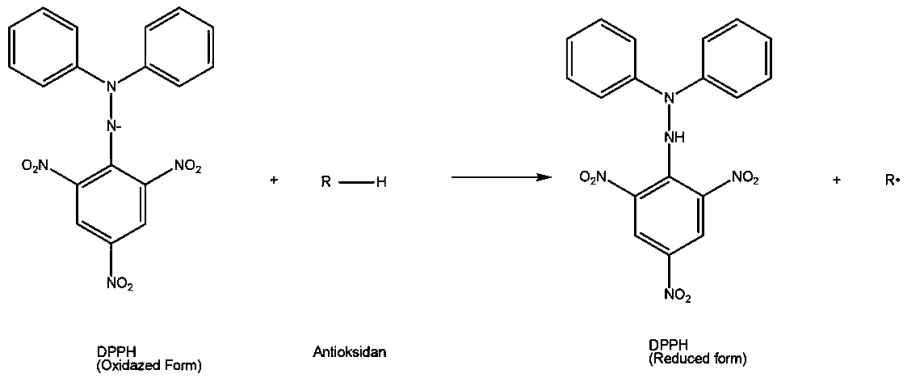
H. Pengujian Antioksidan dengan Metode DPPH

Metode DPPH merupakan metode yang dapat digunakan untuk menentukan aktivitas antioksidan dalam suatu sampel yang akan diuji. Kelebihan dari metode DPPH yaitu metodenya yang sederhana, mudah, cepat, sensitif, serta penggunaan sampel dalam jumlah yang sedikit. Adapun prinsip dari metode ini yaitu adanya donor atom hidrogen (H^+) dari substansi yang diujikan kepada radikal DPPH menjadikannya senyawa non radikal (difenil pikril hidrazin) yang akan ditunjukkan dengan adanya perubahan warna dari ungu menjadi kuning, di mana intensitas perubahan warna DPPH ini berbanding lurus dengan aktivitas antioksidan dalam meredam radikal bebas tersebut (Marliani et al., 2015).



Gambar 2.8 Struktur DPPH

(Tristantini et al., 2016)



Gambar 2.9 Reaksi DPPH dengan Antioksidan

(Tristantini et al., 2016).

Dalam pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH, digunakan panjang gelombang maksimum DPPH. Adapun panjang gelombang maksimum DPPH ialah 517 nm dan panjang gelombang inilah yan akan digunakan dalam uji aktivitas antioksidan (Souhoka et al., 2019).

IC_{50} (*Inhibitor Concentration* 50%) merupakan nilai yang menggambarkan besarnya volume senyawa uji yang dapat menangkap radikal sebesar 50%. Nilai IC_{50} didapatkan dengan menggunakan persamaan regresi linear yang menyatakan hubungan volume sampel yang disimbolkan dengan X terhadap aktivitas peredaman radikal bebas yang disimbolkan dengan Y. Semakin kecil nilai dari IC_{50} maka hal ini menunjukkan senyawa tersebut

memiliki keefektifan sebagai penangkap radikal lebih baik (Ervina et al., 2016).

Sifat antioksidan berdasarkan dari nilai IC_{50} dapat dinyatakan **sangat kuat** apabila nilai IC_{50} sampel lebih kecil dari 50 ppm, dinyatakan **kuat** apabila nilai IC_{50} berada diantara 50 ppm-100 ppm, **sedang** apabila nilai IC_{50} berada diantara rentang 100 ppm-150 ppm, dan dinyatakan **lemah** apabila nilai IC_{50} sampel berada direntang 150 ppm-200 ppm (Tristantini et al., 2016).

I. Ekstraksi

1. Simplisia

Simplisia merupakan bahan yang belum dilakukan pengolahan apapun kecuali bahan alam yang dikeringkan. Jenis-jenis simplisia yaitu simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia pelikan atau mineral (Agoes, 2009). Simplisia nabati lebih mudah dijumpai dan sangat beragam tergantung dari jenis dan bagian dari tumbuhan yang digunakan seperti daun, buah, rimpang, biji, batang dan akar. Beberapa ciri simplisia yang baik ialah kering (kadar air < 10%), tidak berjamur, berbau khas dan berasa khas seperti bahan segarnya. Tahapan yang diperlukan dalam pembuatan simplisia yaitu dimulai dari pengumpulan bahan baku, sortasi basah, pencucian, pengubahan bentuk atau perajangan, pengeringan, sortasi kering, pengepakan, dan penyimpanan (Depkes RI, 2000)

Faktor-faktor yang mempengaruhi kualitas dan spesifikasi simplisia yaitu, bahan dasar simplisia dan cara penanganan atau penyimpanannya,

proses pembuatan atau pengolahan simplisia, serta cara pengemasan dan penyimpanan simplisia (Agoes, 2009).

2. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan suatu zat yang didasarkan pada perbedaan kelarutannya terhadap dua cairan yang tidak saling larut yang berbeda. Adapun prinsip dari ekstraksi ialah melarutkan senyawa polar dalam pelarut polar dan senyawa non polar dalam pelarut non polar (Hammado & Illing, 2013). Secara singkat, ekstraksi dapat didefinisikan sebagai suatu cara untuk memisahkan campuran beberapa zat menjadi komponen-komponen yang terpisah. Ekstraksi juga dapat diartikan sebagai proses penarikan komponen atau zat aktif menggunakan pelarut tertentu (Cikita et al., 2016).

Tahap penentuan metode ekstraksi, meliputi pengelompokkan bagian tumbuhan yaitu daun, bunga, dan lain-lain, pengeringan dan penggilingan bagian tumbuhan; pemilihan pelarut yang akan digunakan; pelarut polar yaitu air, etanol, methanol, dan lain-lain; pelarut semipolar yaitu etil asetat, diklorometana, dan lain-lain; pelarut nonpolar yaitu contohnya n-heksan, petroleum eter, kloroform, dan lain-lain (Mukriani et al., 2015).

Simplisia yang diekstraksi mengandung senyawa aktif yang bersifat dapat larut dan yang bersifat tidak dapat larut misalnya serat, karbohidrat, protein dan lain-lain. Senyawa aktif yang yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan kedalam beberapa kelompok,

alkaloid, flavonoid, minyak atsiri dan lain-lain. Untuk mempermudah pemilihan pelarut dengan cara yang tepat maka penting untuk mengetahui senyawa aktif yang terkandung dalam suatu simpisia.

3. Maserasi

Maserasi merupakan proses penarikan zat aktif dari simplisia dengan melakukan perendaman simplisia dalam sejumlah besar pelarut dalam suatu wadah tertutup dan didiamkan paling sebentar yaitu 3 hari pada temperatur kamar dengan beberapa kali dilakukan pengadukan, lalu disaring atau pun didekantasi (Handa et al., 2008).

Proses maserasi sangat menguntungkan dalam melakukan isolasi pada senyawa bahan alam, dalam proses perendaman sampel akan tejadi pemecahan dinding sel dan membran sel yang diakibatkan oleh perbedaan tekanan di dalam dan luar sel, sehingga metabolit sekunder yang terdapat di dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik. Ekstraksi akan menjadi sempurna apabila diatur waktu perendaman yang dilakukan. Pelarut yang digunakan dalam proses maserasi akan memberikan efektivitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan dari senyawa bahan alam dalam pelarut tersebut (Yulianingtyas & Kusmartono, 2016).

J. Zat Aditif

Zat adiktif makanan adalah senyawa atau campuran berbagai senyawa yang ditambahkan kedalam makanan dan terlibat dalam proses pengolahan, pengemasan, atau penyimpanan dan bukan merupakan bahan utama (Emilia et al., 2020). Penambahan zat aditif ke suatu makanan bertujuan untuk menjaga mutu

dan kestabilan makanan serta untuk mempertahankan nilai gizi yang mungkin rusak atau hilang selama proses pengolahan.

Berdasarkan sumbernya, zat aditif dibagi menjadi dua golongan, yaitu zat aditif alami dan zat aditif buatan. Zat aditif alami adalah zat aditif yang berasal dari sumber alami, misalnya kunyit, daun padan dan lain-lain. Sedangkan zat aditif buatan atau sintetis adalah zat aditif yang terbuat dari bahan-bahan kimia yang melibatkan suatu proses kimia, contohnya seperti mono sodium glutamate (MSG). Zat aditif sintetis ini lah yang apabila digunakan secara berlebihan dapat mengakibatkan gangguan pada kesehatan hingga penyakit yang berbahaya (Royani & Fitriana, 2021).

Pada awalnya zat-zat aditif berasal dari bahan tumbuh-tumbuhan atau yang dikenal dengan zat aditif alami. Umumnya zat aditif alami tidak menimbulkan efek samping yang membahayakan kesehatan manusia. Namun, penggunaan bahan tambahan atau zat aditif pada makanan semakin hari semakin meningkat, terutama setelah adanya penemuan penemuan termasuk keberhasilan dalam mensintesis bahan kimia baru yang lebih praktis, lebih murah, dan lebih mudah diperoleh yang dikenal dengan zat aditif buatan. Penambahan bahan tambahan/zat aditif ke dalam makanan merupakan hal yang dipandang perlu untuk meningkatkan mutu suatu produk sehingga mampu bersaing di pasaran (Emilia et al., 2020).

Menurut Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan (Kemendikbud), berdasarkan fungsinya, zat aditif makanan dapat dikelompokkan menjadi 4 yaitu pewarna, pemanis, pengawet, dan penyedap.

1. Pewarna, merupakan zat yang digunakan untuk memberi dan memperbaiki warna makanan yang dapat menghasilkan warna tertentu (Depkes RI, 1985).
2. Pengawet, merupakan bahan yang ditambahkan untuk memperpanjang masa simpan produk makanan dengan mencegah atau menghambat pertumbuhan mikroba.
3. Pemanis, merupakan senyawa kimia yang ditambahkan untuk keperluan produk olahan pangan, industri serta minuman dan makanan kesehatan. Pemanis dipakai untuk menambah rasa manis yang lebih kuat pada bahan makanan.
4. Penyedap, merupakan bahan tambahan makanan yang berfungsi sebagai penguat rasa protein, penurun rasa amis pada ikan, atau penguat aroma buah-buahan. Penyedap dipakai untuk meningkatkan rasa dan aroma pada makanan