

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Buah Strawberry (*Fragaria x Ananassa*)

2.1.1 Klasifikasi Buah



Gambar 2.1 Buah Strawberry

Tanaman strawberry (*fragaria*) diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom : *Plantae*
Divisi : *Spermatophyta*
Kelas : *Discotyledonae*
Ordo : *Rosales*
Famili : *Rosaceae*
Genus : *Fragaria*
Spesies : *Fragaria x ananassa* (Duchesne ex Weston) Duchesne ex Rozier
Nama Lokal : Buah Strawberry

2.1.2 Deskripsi Buah

Tanaman strawberry pada akar terdiri atas pangkal akar, ujung akar, batang akar, tudung akar, serta bulu akar. Tanaman strawberry mempunyai akar tunggang yang terus tumbuh memanjang dan berukuran besar.

Buah strawberry yang kita kenal sebenarnya adalah buah semu yaitu bukan buah yang sebenarnya. Buah strawberry yang dikenal di masyarakat selama ini merupakan reseptakel atau jaringan dasar bunga yang membesar. Buah yang sebenarnya ialah biji-biji kecil dengan warna putih dan disebut dengan achen. Achen ini berasal dari sel kelamin betina yang telah diserbuki dan

kemudian berkembang menjadi buah kerdil. Achen kemudian menempel pada permukaan reseptakel yang membesar. Biji strawberry berukuran kecil, pada setiap buah menghasilkan banyak biji. Biji dengan ukuran kecil ini terletak di antara daging buah. Pada skala penelitian tanaman biji merupakan alat perbanyakan tanaman secara generative (novelia, 2018).

2.1.3 Kandungan Kimia

Strawberry (*Fragaria x Ananassa*) merupakan tumbuhan dari famili Rosaceae yang memiliki berbagai kandungan kimia diantaranya yaitu, *Anthocyanin, Ellagic Acid, Catechin, Quer-cetin, Kaempferol, Vitamin A, B dan C*. buah strawberry berfungsi sebagai antioksidan dan antiinflamasi sehingga ekstrak buah strawberry dapat digunakan sebagai penangkal radiasi sinar UV (Arifah dkk, 2013).

2.1.4 Khasiat Buah Strawberry

Stroberi juga salah satu buah yang memiliki konsentrasi antioksidan untuk melawan kanker, kolesterol jahat, dan penyakit jantung (Sumarlan dkk, 2018).

2.2 Simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dibedakan menjadi tiga, yaitu simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelikan (mineral).

Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Simplisia hewani adalah simplisia yang dapat berupa hewan utuh atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa bahan kimia murni, misalnya minyak ikan dan madu. Simplisia pelikan atau mineral adalah simplisia berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa bahan kimia murni, contoh serbuk seng dan serbuk tembaga. (FI Edisi IV, 1995)

2.3 Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat 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. (FI Edisi IV, 1995).

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan kandungan senyawa kimia dari jaringan tumbuhan maupun hewan dengan pelarut yang sesuai. Sebelum ekstraksi dilakukan biasanya bahan dikeringkan terlebih dahulu kemudian dihaluskan pada derajat kehalusan tertentu (Harborne, 1987).

Menurut Depkes RI (2000), ada beberapa metode ekstraksi yang sering digunakan antara lain yaitu:

2.3.1 Cara Dingin

1. Maserasi

Maserasi adalah penyarian simplisia dengan cara perendaman menggunakan pelarut disertai sesekali pengadukan pada temperatur kamar. Maserasi yang dilakukan pengadukan secara terus menerus disebut maserasikinetik, sedangkan yang dilakukan penambahan ulang pelarut setelah dilakukan penyaringan terhadap maserat pertama dan seterusnya disebut remaserasi.

2. Perkolasi

Perkolasi adalah proses penyarian simplisia menggunakan alat perkolator dengan pelarut yang selalu baru sampai terjadi penyarian sempurna yang umumnya dilakukan pada temperatur kamar. Proses perkolasi terdiri dari tahap pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan/penampungan ekstrak) terus menerus sampai diperoleh perkolat.

2.3.2 Cara Panas

1. Refluks

Refluks adalah proses penyarian simplisia pada temperatur titik didihnya menggunakan alat dengan pendingin balik dalam waktu tertentu dimana pelarut akan terkondensasi menuju pendingin dan kembali ke labu.

2. Digesti

Digesti adalah proses penyarian dengan pengadukan kontinu pada temperatur lebih tinggi dari temperatur kamar, yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50°C.

3. Sokletasi

Sokletasi adalah proses penyarian menggunakan pelarut yang selalu baru, dilakukan dengan menggunakan alat khusus (soklet) dimana pelarut akan terkondensasi dari labu menuju pendingin, kemudian jatuh membasahi sampel.

4. Infundasi

Infundasi adalah proses penyarian dengan menggunakan pelarut air pada temperatur 90°C selama 15 menit.

5. Dekoktasi

Dekoktasi adalah proses penyarian dengan menggunakan pelarut air pada temperatur 90°C selama 30 menit.

2.4 Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang mempunyai struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya kepada molekul radikal bebas dan dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas. Antioksidan juga berguna untuk mencegah oksidasi komponen makanan yang mengandung senyawa tidak jenuh (mempunyai ikatan rangkap) misalnya minyak dan lemak. Kombinasi beberapa jenis oksidasi antioksidan memberikan perlindungan yang lebih baik (sinergisme) dibanding dengan satu jenis antioksidan saja (Ramadhan, 2015).

Antioksidan ditujukan untuk mencegah dan mengobati penyakit seperti aterosklerosis, stroke, diabetes, alzheimer, dan kanker (Aqil, Ahmad dan Mehmood, 2006).

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang tidak stabil dan sangat reaktif karena mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya. Untuk mencapai kestabilan atom atau molekul, radikal bebas akan bereaksi dengan molekul disekitarnya untuk memperoleh pasangan elektron. Reaksi ini akan berlangsung terus menerus dalam tubuh dan bila tidak dihentikan akan menimbulkan berbagai penyakit seperti kanker, jantung, katarak, penuaan dini serta penyakit degeneratif lainnya. Persyaratan (sesuai peraturan undang-undang) : Antioksidan sebagai bahan tambahan pangan batas maksimum penggunaannya telah diatur oleh Peraturan Menteri kesehatan RI Nomor 772/Menkes/Per/IX/88 tertulis dalam lampiran I, antioksidan yang diizinkan penggunaannya antara lain asam askorbat, asam eritrobat, askorbil palmitat, askorbil stearat, butil hidroksilanisol (BHA), butil hidrokinin tersier, butil

hidroksitoluen, dilauril tiodipropionat, propil gallat, timah (II) klorida, alpha tokoferol, tokoferol, campuran pekat (Cahyadi, 2008).

Berdasarkan sumbernya antioksidan dibagi dalam dua kelompok yaitu antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alami) dan antioksidan sintetis (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia). Sedangkan berdasarkan mekanisme kerjanya, antioksidan digolongkan menjadi tiga kelompok, yaitu antioksidan primer, sekunder, dan tersier.

Antioksidan primer disebut juga sebagai antioksidan enzimatis. Antioksidan primer meliputi :

1. enzim superoksida dismutase
2. katalase
3. glutathione peroksidase

Enzim-enzim ini menghambat pembentukan radikal bebas dengan cara memutus reaksi berantai (polimerisasi), dan mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil. Antioksidan kelompok ini disebut juga chain-breaking-antioxidant (Winarsi, 2007).

Antioksidan sekunder disebut juga antioksidan eksogenus atau non enzimatis. Cara kerja sistem antioksidan non-enzimatis yaitu dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas. Akibatnya radikal bebas tidak bereaksi dengan komponen seluler. Contoh antioksidan sekunder ialah vitamin E, vitamin C, flavonoid, asam urat, bilirubin, dan albumin (Lampe, 1999).

Antioksidan tersier contohnya enzim DNA-repair dan metionin sulfoksida reduktase yang berperan dalam perbaikan biomolekul yang dirusak oleh radikal bebas. Kerusakan DNA yang terinduksi senyawa radikal bebas dicirikan oleh rusaknya single dan double stand, baik gugus basa maupun non-basa. Perbaikan kerusakan basa dalam DNA yang diinduksi senyawa oksigen reaktif terjadi melalui perbaikan jalur eksisi basa. Pada umumnya, eksisi basa terjadi dengan cara memusnahkan basa yang rusak, yang dilakukan oleh DNA glikosilase (Winarsi, 2007).

2.5 Uji Efek Antioksidan

A. Uji DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl)

DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl) merupakan radikal bebas dengan massa molar relatif 394,33 ($\text{MrC}_{18}\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}_6 = 394,33$), bersifat stabil pada suhu kamar dan mempunyai panjang gelombang maksimum 515-517 nm.

Antioksidan akan memberikan sebagian atom hidrogen ke radikal bebas DPPH agar menjadi lebih stabil (DPPH-H). Salah satunya senyawa bioaktif yang dapat diisolasi dan bersifat antioksidan adalah flavonoid. Flavonoid akan menangkap radikal bebas DPPH. Radikal bebas DPPH akan mengoksidasi flavonoid sehingga terbentuk radikal dengan kereaktifan yang rendah. Flavonoid mendonorkan radikal hidrogen dari cincin aromatik dan menghasilkan radikal flavonoid yang bersifat tidak toksik.

Metode DPPH adalah metode yang paling sering digunakan untuk skrining aktivitas antioksidan dari berbagai tanaman obat. Peredaman radikal bebas DPPH didasarkan pada reduksi dari radikal bebas DPPH yang berwarna oleh penghambat radikal bebas. Prosedur ini melibatkan pengukuran penurunan serapan DPPH pada panjang gelombang maksimalnya yang sebanding terhadap konsentrasi penghambat radikal bebas yang ditambahkan ke larutan reagen DPPH. Aktivitas tersebut dinyatakan sebagai konsentrasi efektif (*effective concentration*), IC_{50} atau *inhibitory concentration*, IC_{50} (Amelia, 2011).

Nilai IC_{50} merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi sampel uji ($\mu\text{g/ml}$) yang memberikan peredaman DPPH sebesar 50%. Nilai 0% berarti tidak mempunyai aktivitas antioksidan, sedangkan nilai 100% berarti peredaman total dan pengujian perlu dilanjutkan dengan pengenceran larutan uji untuk melihat batas konsentrasi aktivitasnya. Hasil perhitungan dimasukkan kedalam persamaan regresi ($Y=AX+B$) dengan konsentrasi ekstrak (ppm) sebagai absis (sumbu X) dan nilai % peredaman (antioksidan) sebagai koordinatnya (sumbu Y). Secara spesifik, suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC_{50} kurang dari 50 $\mu\text{g/ml}$, kuat untuk IC_{50} bernilai 50-100 $\mu\text{g/ml}$, sedang jika IC_{50} bernilai 100-150 $\mu\text{g/ml}$ dan lemah jika IC_{50} bernilai 151-200 $\mu\text{g/ml}$ (Putri dkk, 2015).

Parameter penentuan potensi aktivitas peredaman radikal bebas DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dinyatakan dengan parameter IC_{50} yaitu konsentrasi uji yang menyebabkan peredaman radikal bebas sebesar 50%. Kategori kekuatan aktivitas antioksidan dapat dilihat pada tabel 2.1.

Tabel 2.1 Tingkat Kekuatan Antioksidan dengan Metode DPPH

Intensitas	Nilai IC_{50}
Sangat kuat	<50 $\mu\text{g/ml}$

Kuat	50-100µg/ml
Sedang	101-150µg/ml
Lemah	>151-200µg/ml

B. Metode Asam Tiobarbiturat

Metode yang digunakan yaitu TBARS (thiobarbituric acid reactive substance) dengan fluorofotometri. Prinsip analisis ini yaitu pemanasan akan menghidrolisis peroksida lipid sehingga MDA yang terikat akan dibebaskan dan akan bereaksi dengan TBA dalam suasana asam membentuk kompleks MDA-TBA yang berwarna merah, dan diukur dengan panjang gelombang 532 nm. Metode ini dipergunakan untuk mengukur keberadaan radikal bebas dan peroksidasi lipid, karena mempunyai kepekaan yang cukup tinggi, mudah di aplikasikan untuk berbagai sampel pada berbagai tahap oksidasi lipid, dan biaya nya cukup terjangkau.

C. Metode β -karoten

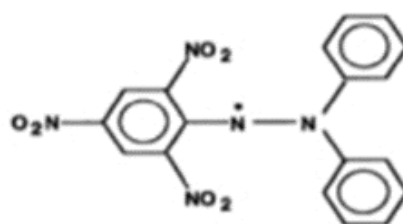
Metode ini didasarkan pemucatan warna emulsi sistem β -karoten dan asam oleat. BHT digunakan sebagai pembanding, karena BHT memiliki keefektifan sebagai antioksidan yang paling tinggi walaupun memiliki satu gugus hidroksi (- OH) dan memiliki jumlah resonansi yang sama dengan eugenol, tetapi lebih bersifat non polar dibandingkan dengan senyawa lainnya karena adanya gugus alkil yang lebih tersubstitusi, yaitu t-butil (- C (CH₃)₃). Pemucatan warna dari sistem merupakan parameter terjadinya reaksi oksidasi. Semakin besar penurunan nilai absorbansinya, maka semakin tinggi tingkat oksidasi yang terjadi pada sistem itu.

2.6 Penentuan Efek Antiksidan dengan Metode DPPH

Salah satu uji yang dapat dilakukan untuk menentukan potensi antioksidan suatu senyawa adalah dengan menguji kemampuannya dalam meredam senyawa radikal DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil). DPPH merupakan radikal bebas yang stabil pada suhu kamar dan sering digunakan untuk menilai aktivitas antioksidan beberapa senyawa atau ekstrak bahan alam (Gurav, dkk., 2007).

DPPH menerima elektron atau radikal hidrogen akan membentuk molekul diamagnetik yang stabil. Interaksi antioksidan dengan DPPH baik secara transfer elektron atau radikal hidrogen pada DPPH, akan menetralkan radikal bebas dari

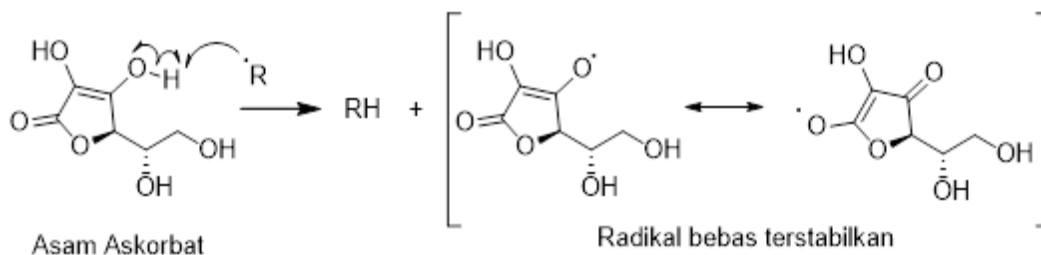
DPPH dan membentuk reduksi DPPH. Warna larutan berubah dari ungu tua menjadi kuning terang dan absorbansi pada panjang gelombang 516 nm akan hilang jika semua elektron pada radikal bebas DPPH menjadi berpasangan. Perubahan ini dapat diukur sesuai dengan jumlah elektron atau atom hidrogen yang ditangkap oleh molekul DPPH akibat adanya zat reduktor. Suatu zat mempunyai sifat antioksidan bila nilai IC₅₀ kurang dari 200 ppm. Bila nilai IC₅₀ yang diperoleh berkisar antara 200-1000 ppm, maka zat tersebut kurang aktif namun masih berpotensi sebagai zat antioksidan (Molyneux, 2004).



Gambar 2.2 struktur DPPH (Molyneux, 2004)

Secara umum hasil dari metode DPPH diinterpretasikan dalam parameter IC₅₀ (*Inhibition Concentration*) atau EC₅₀ (*Effective Concentration 50*). IC₅₀ atau EC₅₀ didefinisikan sebagai konsentrasi larutan substrat atau sampel yang akan menyebabkan tereduksi aktivitas DPPH sebesar 50%. Semakin besar aktivitas antioksidan maka nilai IC₅₀ atau EC₅₀ akan semakin kecil.

Vitamin C dapat digunakan sebagai antioksidan pembanding dalam uji DPPH. Dalam hal ini, Vitamin C bersifat sebagai antioksidan primer. Vitamin C dapat dengan cepat mendonorkan atom hidrogen ke radikal lipid untuk membentuk radikal bebas askorbil yang stabil. Adapun mekanisme stabilisasi radikal bebas oleh vitamin C dapat dilihat pada Gambar berikut.



Gambar 2.3 Stabilisasi radikal bebas oleh Vitamin C (kimia100.com)

Lama pengukuran metode DPPH menurut beberapa literatur yang direkomendasikan adalah selama 60 menit, tetapi dalam beberapa penelitian waktu yang digunakan sangat bervariasi yaitu 5 menit, 10 menit, 20 menit, 30 menit dan 60 menit. Kenyataannya waktu reaksi yang benar adalah ketika reaksi sudah mencapai kesetimbangan. Kecepatan reaksi dipengaruhi oleh sifat dari aktivitas antioksidan yang terdapat di dalam sampel. Cara ini biasanya dilakukan jika digunakan pengukuran hasil reaksi atau pembentukan warna. Kestabilan senyawa produk diketahui dengan mengamati absorbansi mulai dari saat direaksikan hingga tercapai serapan yang stabil (Molyneux, 2004).

Panjang gelombang maksimum (λ maks) yang digunakan dalam pengukuran uji sampel uji sangat bervariasi. Menurut beberapa literatur panjang gelombang maksimum untuk DPPH antara 515-520 nm. Pada prakteknya hasil pengukuran yang memberikan peak maksimum itulah panjang gelombangnya yaitu sekitar panjang gelombang yang disebutkan diatas. Nilai absorbansi yang mutlak tidaklah penting, karena panjang gelombang dapat diatur untuk memberikan absorbansi maksimum sesuai dengan alat yang digunakan. Disekitar panjang gelombang maksimal, bentuk kurva absorbansi linier, sehingga memenuhi hukum Lambert-beer (Molyneux, 2004).

2.7 Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer Ultraviolet-Visibel (UV-Vis) merupakan salah satu teknik analisis spektroskopi yang memakai sumber radiasi elektromagnetik ultraviolet dekat (190nm-380nm) dan sinar tampak (380nm-780nm) dengan memakai instrumen spektrofotometer (Mulja dan Suharman, 1995).

Spektrofotometri serapan merupakan metode pengukuran serapan radiasi elektromagnetik pada panjang gelombang tertentu yang diserap zat (Depkes RI, 1979). Spektrofotometri yang sering digunakan untuk mengukur serapan larutan atau zat yang diperiksa adalah spektrofotometri ultraviolet dengan panjang gelombang antara 200-400 nm dan visible (cahaya tampak) dengan panjang gelombang antara 400-800 nm (Rohman, 2007).

Absorbansi yang terbaca pada spektrofotometer paling baik jika berada antara 0,2-0,8 atau 15% sampai 70% jika dibaca sebagai transmittan (Gandjar dan Rohman, 2007).

Tahapan-tahapan dalam penggunaan spektrofotometer adalah:

1. Pemilihan pelarut

Pelarut yang dipakai tidak mengandung sistem terkonjugasi pada struktur molekulnya atau tidak berwarna, tidak berinteraksi dengan molekul senyawa yang diukur dan mempunyai kemurnian yang tinggi (Gandjar dan Rohman, 2007).

2. Pemilihan panjang gelombang

Untuk memilih panjang gelombang maksimal, dilakukan dengan membuat kurva hubungan antara absorbansi dengan panjang gelombang dari satu larutan baku pada konsentrasi tertentu (Gandjar dan Rohman, 2007).

3. Pembuatan kurva baku

Dibuat seri larutan baku dari zat yang akan dianalisis dengan berbagai konsentrasi diukur, kemudian dibuat kurva yang merupakan hubungan antar absorbansi (y) dengan konsentrasi (x) (Gandjar dan Rohman, 2007).

4. Pembacaan absorbansi sampel atau cuplikan

Absorbansi yang terbaca pada spektrofotometer paling baik jika berada antara 0,2-0,8 atau 15% sampai 70% jika dibaca sebagai transmittan (Gandjar dan Rohman, 2007).

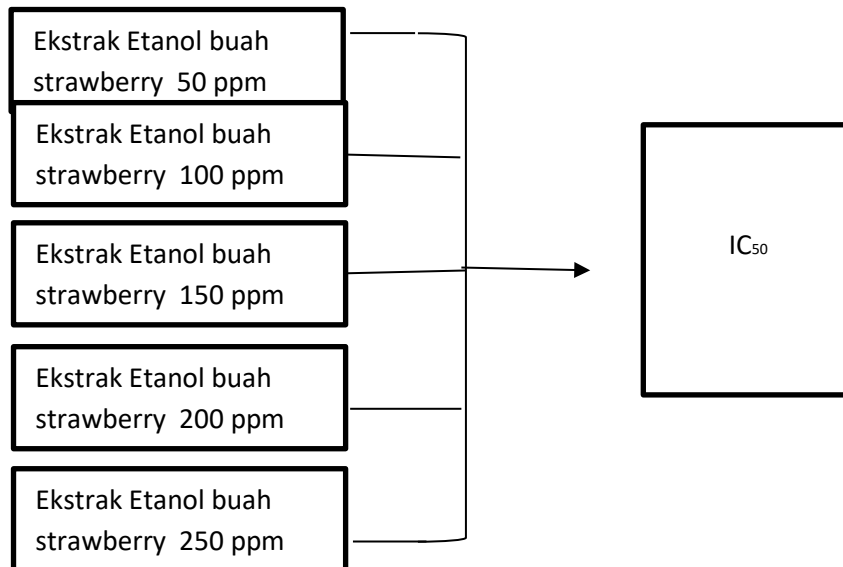
5. Waktu operasional (Operating Time)

Tujuannya adalah untuk mengetahui waktu pengukuran yang stabil. Pada saat awal terjadi reaksi, absorbansi senyawa yang berwarna ini meningkat sampai waktu tertentu hingga diperoleh absorbansi yang stabil. Semakin lama waktu pengukuran, maka ada kemungkinan senyawa yang berwarna tersebut menjadi rusak sehingga intensitas warnanya turun akibat absorbansinya juga turun (Gandjar dan Rohman, 2007).

2.8 Kerangka Konsep

VARIABEL BEBAS

VARIABEL TERIKAT



Gambar 2.4 Kerangka Konsep

2.9 Definisi Operasional

1. Ekstrak etanol Buah Strawberry adalah buah strawberry yang sudah dipetik dan dicuci bersih lalu dibuat simplisia dan diekstrak dengan metode maserasi sehingga memperoleh ekstrak etanol Buah Strawberry.
2. IC₅₀ adalah nilai IC₅₀ merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi sampai uji ($\mu\text{g/ml}$) yang memberikan perendaman DPPH sebesar 50%

2.10 Hipotesis

Ekstrak etanol buah strawberry (*fragaria x ananassa*) mengandung Antioksidan dengan metode *1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH).