

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Kubis Ungu (*Brassica oleracea* var)

2.1.1 Klasifikasi Tanaman



Gambar 2.1.1 Tanaman kubis ungu

Klasifikasi tanaman Kubis Ungu (*Brassica oleracea* var. *Acephala*) sebagai berikut :

Kingdom : *Plantae*
Divisi : *Spermathophyta*
Kelas : *Dicotyledoneae*
Ordo : *Brassicales*
Famili : *Brassicaceae*
Genus : *Brassica*
Spesies : *Brassica oleracea* var. *Acephala*

2.1.2 Deskripsi Tanaman

Di Indonesia kubis ungu dikenal dengan beberapa nama daerah, yaitu: kol (Sumatera), kobis, kubis telur, kubis ungu dan kubis krop, (Jawa) (Sukprakan, et al., 2012). Tumbuhan kubis (*Brassica oleracea*) bentuk capitata merupakan tumbuhan dari famili *Brassicaceae* atau *Cruciferae* (Majeed, 2004). Bentuk capitata menghasilkan kubis ungu maupun kubis putih. Kubis ungu dapat ditanam di dataran rendah maupun dataran tinggi dengan curah hujan rata-rata 850-900 mm dan umur panen berbeda-beda berkisar dari 90 hari sampai 150

hari. Kubis dapat diperbanyak dengan biji atau setek tunas (Dalimartha, 2000). Tumbuhan kubis mempunyai daun berbentuk bulat, oval, sampai lonjong, membentuk akar yang besar dan tebal, warna daun bermacam-macam antara lain putih, hijau dan merah keunguan. Awalnya daun berlapis lilin tumbuh lurus, daun-daun berikutnya tumbuh membengkok, menutupi daun-daun muda yang terakhir tumbuh. Pertumbuhan daun terhenti ditandai dengan terbentuknya krop atau telur (kepala). Selanjutnya, krop akan pecah dan keluar malai bunga yang bertangkai panjang, bercabang-cabang, berdaun kecil-kecil, mahkota tegak dan berwarna kuning. Buahnya polong berbentuk silindris, panjang 5-10 cm, berbiji banyak. Biji berdiameter 2-4 mm, berwarna coklat kelabu., Tinggi tanaman kubis umumnya 40-60 cm (Dalimartha, 2000).

2.1.3 Kandungan Kimia

Kubis ungu merupakan famili *Brassicaceae* adalah sayuran dengan kaya akan mineral, vitamin, polifenol, antosianin (Draghici, et al., 2013). Kubis ungu memiliki kandungan karbohidrat, protein, glikosida, flavonoid, fenol (Shama, et al., 2012), air, lemak, karbohidrat, serat, kalsium, fosfor, besi, natrium, kalium, vitamin (A, C, E), beta karoten, antosianin (pemberi warna merah-ungu) (Dalimartha, 2000).

2.1.4 Khasiat Tanaman

Tumbuhan kubis ungu digunakan sebagai pewarna alami di berbagai produk, mempunyai serat diet yang cukup tinggi dalam membantu pencegahan kanker kolon, kolesterol, diabetes dan obesitas. Mengonsumsi jus kubis ungu juga dapat membantu memperbaiki lapisan lambung dan mengobati ulkus (Draghici et al., 2013). Kubis ungu memiliki manfaat bagi kesehatan g beberapa diantaranya sebagai pengurangan peradangan, sebagai kesehatan tulang yang lebih kuat, sebagai antiinflamasi, menjaga pencernaan tetap sehat, membantu menjaga kesehatan jantung, menjaga kulit tetap sehat dan lain sebagainya. Pada sayuran kubis juga terkandung zat spesifik antikarsinogen atau antikanker yang dapat mencegah atau mengurangi resiko terkena kanker.

2.2 Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan atom atau molekul yang sifatnya sangat tidak stabil dan elektron yang tidak berpasangan. Elektron-elektron yang tidak

berpasangan ini menyebabkan radikal bebas menjadi senyawa yang sangat reaktif terhadap sel-sel tubuh dengan cara mengikat elektron molekul sel (Diana sylvia, dkk 2018). Radikal bebas memiliki reaktivitas yang sangat tinggi. Hal ini ditunjukkan oleh sifatnya yang segera menarik atau menyerang elektron di sekelilingnya, baik berupa senyawa lipid, lipoprotein, protein, karbohidrat, RNA, maupun DNA. Selain itu, radikal bebas yang berlebih didalam tubuh dapat mengganggu produksi DNA, lapisan lipid pada dinding sel. Mempengaruhi pembuluh darah dan produksi prostaglandin sehingga dapat memicu tumbuhnya sel kanker. Pembentukan radikal bebas dapat dicegah dengan antioksidan.

2.3 Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat mencegah dan menghambat reaksi oksidasi dengan cara memberikan atau mendonorkan elektronnya kepada molekul radikal bebas, sehingga dapat menghentikan reaksi oksidasi yang disebabkan oleh radikal bebas (Martiningsih et al., 2016).

Berdasarkan sumbernya antioksidan dibagi dalam 2 jenis yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetis. Antioksidan alami merupakan jenis antioksidan yang berasal dari tumbuhan dan hewan. Antioksidan yang berasal dari tumbuhan adalah senyawa fenolik berupa golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, tokoferol dan asam organik polifungsional (Isnindar dkk, 2011). Diseluruh bagian tumbuhan baik pada kayu, biji, daun, akar, bunga maupun serbuk sari terdapat senyawa fenolik. Antioksidan sintetis yang umum digunakan untuk makanan yaitu *butylated hydroxy anisole* (BHA), *butylate Hydroxy toluene* (BHT). Penggunaan antioksidan sintetis dibatasi karena beberapa antioksidan terbukti bersifat karsinogenik dan beracun terhadap hewan percobaan (Zuhra dkk, 2008). Antioksidan sintetis juga dapat memperburuk kesehatan manusia yaitu gangguan fungsi hati, paru-paru, mukosa usus dan keracunan.

Berdasarkan mekanisme kerja nya antioksidan dibedakan menjadi 3 kelompok yaitu :

a. Antioksidan Primer

Antioksidan primer adalah antioksidan yang bekerja dengan cara mencegah terbentuknya radikal bebas baru dan mengubah radikal bebas menjadi molekul yang tidak merugikan. Contohnya *butylate Hydroxy toluene* (BHT), *tersier butyl quinon* (TBHQ).

b. Antioksidan Sekunder

Antioksidan sekunder merupakan suatu senyawa yang dapat mencegah kerja prooksidan yaitu faktor-faktor yang mempercepat terjadinya reaksi oksidasi logam. Antioksidan berfungsi menangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya reaksi berantai sehingga tidak terjadi kerusakan yang lebih besar. Contohnya vitamin E, vitamin C dan betakaroten yang dapat diperoleh dari buah-buahan.

c. Antioksidan Tersier

Antioksidan tersier merupakan senyawa yang memperbaiki sel-sel dan jaringan yang rusak karena serangan radikal bebas. Contohnya yaitu jenis enzim misal metionin sulfoksidan reduktase yang dapat memperbaiki DNA dalam inti sel. Enzim tersebut bermanfaat untuk perbaikan DNA pada penderita kanker.

Aktifitas antioksidan tidak dapat diukur secara langsung, melainkan melalui efek antioksidan dalam mengontrol proses oksidasi. Banyak metode yang bisa digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan. Pada pengukuran aktifitas antioksidan perlu diperhatikan sumber radikal bebas dan substrat. Hal ini dikarenakan antioksidan mungkin dapat melindungi lipid dari kerusakan oleh radikal bebas, namun di waktu yang sama dapat mempercepat kerusakan molekul sel lainnya. Untuk mengatasi masalah ini dapat digunakan beberapa metode pengukuran aktifitas antioksidan untuk mengevaluasi efek dari antioksidan.

2.4 Ekstrak dan Ekstraksi

2.4.1 Pengertian

Simplisia adalah bahan alam yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga, kecuali dinyatakan lain berupa bahan yang telah dikeringkan (FI Edisi III 1979). Simplisia banyak mengandung senyawa aktif yang dapat larut dan senyawa yang tidak dapat larut, seperti serat, karbohidrat protein dan lain-lain, sehingga perlu dilakukan proses ekstraksi. Ekstraksi atau penyarian merupakan kegiatan atau proses penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair yang telah dipilih sehingga zat yang diinginkan akan terlarut. Hasil dari proses penarikan tersebut disebut ekstrak.

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia 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 VI 2020).

Ekstraksi merupakan proses penyarian senyawa kimia yang terdapat dalam bahan alam atau berasal didalam sel dengan menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian rupa hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan.

2.4.2 Jenis-jenis Ekstrak

a. Ekstrak Cair (*Ekstractum liquidum*)

Ekstrak cair adalah hasil penyarian bahan alam dan masih mengandung pelarut.

b. Ekstrak Kental (*Ekstractum spissum*)

Ekstrak kental adalah ekstrak yang telah mengalami proses penguapan dan sudah tidak mengandung cairan pelarut lagi, tetapi konsistennya tetap cair pada suhu kamar

c. Ekstrak Kering (*Ekstractum siccum*)

Ekstrak kering adalah ekstrak yang telah mengalami proses penguapan dan tidak lagi mengandung pelarut dan berbentuk padat (kering)

2.5 Metode Ekstraksi

Metode pembuatan ekstrak yang umum digunakan adalah ekstraksi dengan menggunakan suatu pelarut, ekstraksi dapat dilakukan dengan 2 cara panas atau cara dingin. Pelarut atau cairan penyari yang digunakan dalam ekstraksi dapat berupa air, etanol, campuran etanol-air dan eter (Harborne, 1987). Proses ekstraksi dapat dilakukan dengan beberapa metode yaitu maserasi, perkolasi, sokletasi, refluks, digesti dan infusa (Depkes RI, 2000).

1. Cara Dingin

a. Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan

pada temperatur ruangan (kamar). Maserasi merupakan proses penyarian yang paling sederhana dan banyak digunakan (Depkes RI, 2000). Secara teknologi, maserasi adalah ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi dilakukan dengan cara merendam bahan-bahan tumbuhan yang telah dihaluskan dalam pelarut terpilih. Bahan-bahan tumbuhan yang dimaserasi tersebut disimpan dalam waktu tertentu dalam ruang yang gelap dan sesekali diaduk.

Metode ini memiliki keuntungan yaitu cara pengerjaannya yang lebih mudah, alat-alat yang digunakan sederhana, dan cocok untuk bahan yang tidak tahan pemanasan. Di sisi lain, metode ini memiliki kelemahan yaitu dibutuhkan pelarut yang cukup banyak.

b. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Proses terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara tahap perkolasi sebenarnya (penetesan/penampungan) terus sampai diperoleh ekstrak yang jumlahnya 1-5 kali bahan (Depkes RI, 2000). Proses perkolasi terdiri dari tahap pengembangan bahan. Tahap perendaman, tahap perkolasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penampungan ekstrak) secara terus-menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat). Untuk menentukan akhir dari perkolasi dapat dilakukan pemeriksaan zat secara kualitatif pada perkolat akhir. Untuk ekstrak cair dan ekstrak bahan aktif dalam tincture dapat digunakan metode perkolasi (Tiwari. *et all.*, 2011).

2. Cara Panas

a. Soxhlet

Soxhletasi adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Depkes RI, 2000). Metode ekstraksi soxhlet adalah metode ekstraksi dengan prinsip pemanasan dan perendaman sampel. Kelemahan cara soxhlet adalah membutuhkan waktu beberapa jam sehingga kebutuhan energinya tinggi. Pemanasan yang lama tergantung

dari lama ekstraksinya terutama dari titik didih bahan pelarut yang digunakan dapat berdampak negatif terhadap senyawa yang peka terhadap suhu.

b. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna (Depkes RI, 2000). Ekstraksi dengan cara ini pada dasarnya adalah ekstraksi berkesinambungan. Bahan yang akan diekstraksi direndam dengan cairan penyari dalam labu alas bulat yang dilengkapi dengan alat pendingin tegak, lalu dipanaskan sampai mendidih. Cairan penyari akan menguap, uap tersebut akan diembunkan dengan pendingin tegak dan akan kembali menyari zat aktif dalam simplisia tersebut. Ekstraksi ini biasanya dilakukan 3 kali dan setiap kali diekstraksi selama 4 jam.

c. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu pada suhu yang lebih tinggi dari suhu ruangan, yaitu secara umum dilakukan pada suhu 40°-50°C (Depkes RI, 2000). Digesti merupakan maserasi dengan pengadukan kontinu pada temperatur lebih tinggi dari temperatur ruang (umumnya 25°C – 30°C). Digesti merupakan jenis ekstraksi maserasi dimana suhu sedang digunakan selama proses ekstraksi (Tiwari. *et al.*, 2011).

d. Infusa

Infundasi adalah proses penyarian yang umumnya digunakan untuk menyari zat aktif yang larut dalam air dari bahan nabati. Infusa adalah sediaan cair yang dibuat dengan menyari simplisia dengan air pada suhu penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih), suhu terukur (96°- 98°C) selama waktu tertentu (15-20 menit) (Depkes RI, 2000).

2.6 Metode DPPH

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*) EC50 atau *inhibitory concentration* IC50.

Nilai IC50 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 ke dalam 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 IC50 kurang dari 50 $\mu\text{g/ml}$, kuat untuk IC50 bernilai 50-100 $\mu\text{g/ml}$, sedang jika IC50 bernilai 100-150 $\mu\text{g/ml}$ dan lemah jika IC50 bernilai 151-200 $\mu\text{g/ml}$ (Mardawati, et al., 2008).

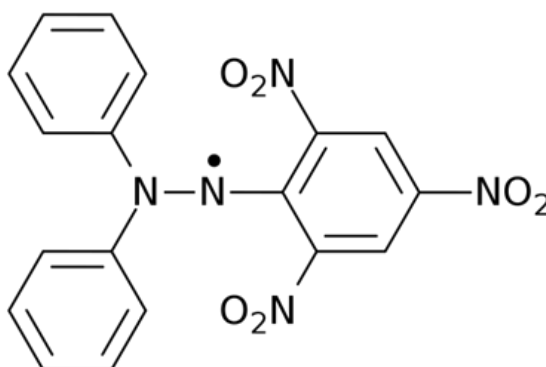
Parameter penentuan potensi aktivitas peredaman radikal bebas DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dinyatakan dengan parameter IC50 yaitu konsentrasi uji yang menyebabkan peredaman radikal bebas sebesar 50%. Kategori kekuatan aktivitas antioksidan dapat dilihat pada tabel 2.6.

Tabel 2.6 Kategori Kekuatan Aktivitas Antioksidan

No.	Kategori	IC ₅₀
1.	Sangat Kuat	<50 ($\mu\text{g/ml}$)
2.	Kuat	50-100($\mu\text{g/ml}$)
3.	Sedang	101—150 ($\mu\text{g/ml}$)
4.	Lemah	151-200 ($\mu\text{g/ml}$)

2.6.1 Penentuan Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Salah satu pengujian yang umum digunakan untuk mengetahui aktivitas antioksidan pada suatu bahan yaitu dengan mengetahui reduksi terhadap senyawa radikal DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). DPPH adalah senyawa radikal yang dapat digunakan sebagai indikator proses reduksi senyawa antioksidan. Prinsip pengujiannya adalah dengan mereaksikan senyawa antioksidan dengan senyawa radikal bebas yang direduksi oleh sampel.



2.6.1 Struktur DPPH (Molyneux, 2004).

Metode DPPH digunakan secara luas untuk menguji kemampuan senyawa yang berperan sebagai pendonor elektron atau hidrogen. Metode DPPH dapat mengukur efektivitas total antioksidan baik dalam pelarut polar maupun non polar.

Metode DPPH dipilih Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) karena sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel. Prinsip kerja metode DPPH didasarkan pada reduksi dari larutan metanol radikal bebas DPPH yang berwarna ungu bertemu dengan bahan pendonor elektron maka DPPH akan memudar dan digantikan warna kuning yang berasal dari gugus pikril (Prayoga, 2013).

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

Spektrofotometri serapan merupakan metode pengukuran serapan radiasi elektromagnetik pada panjang gelombang tertentu yang diserap zat (FI Edisi III Tahun 1979). Spektrofotometer adalah alat untuk mengukur transmittan atau absorbansi suatu sampel sebagai fungsi panjang gelombang, tiap media akan menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu tergantung pada senyawa atau warna yang terbentuk. Spektrofotometer merupakan alat yang digunakan untuk mengukur absorbansi dengan cara melewatkan cahaya dengan panjang gelombang tertentu pada suatu objek kaca atau kuarsa yang disebut kuvet. Sebagian dari cahaya tersebut akan di serap dan sisanya akan dilewatkan. Nilai absorbansi dari cahaya yang di serap sebanding dengan konsentrasi larutan di dalam kuvet.

Spektrofotometer UV-VIS adalah pengukuran serapan cahaya di daerah ultraviolet (190 nm – 380 nm) atau pada daerah cahaya tampak (380 nm - 780 nm) oleh suatu senyawa (FI Edisi III Tahun 1979). Serapan cahaya Ultraviolet atau Visibel (cahaya tampak) mengakibatkan transisi elektronik, yaitu promosi elektron-elektron dari orbital keadaan dasar yang berenergi rendah ke orbital keadaan tereksitasi berenergi lebih rendah. 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

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).

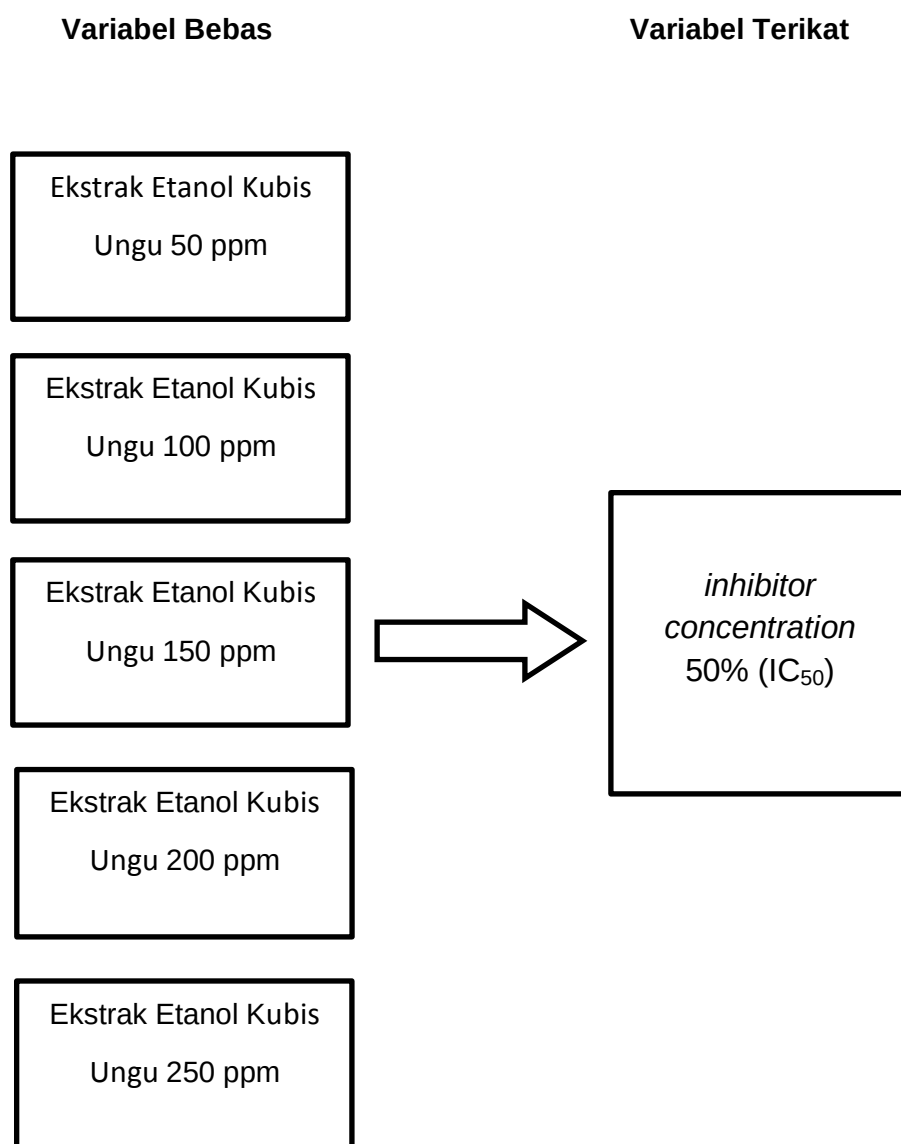
4. Pembacaan absorbansi sampel atau cuplikan

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

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.

2.8 Kerangka konsep



Gambar 2.8 Kerangka Konsep

2.9 Defenisi Operasional

- a. Ekstrak Etanol Kubis Ungu adalah kubis ungu yang sudah dipetik dan dicuci bersih kemudian dibuat menjadi simplisia dan diekstrak dengan metode maserasi yang memperoleh ekstrak etanol kubis ungu.
- b. IC_{50} (*Inhibitor Concentration 50%*) adalah bilangan yang menunjukkan konsentrasi sampel uji ($\mu\text{g/ml}$) yang memberikan perendaman DPPH sebesar 50%.

3.0 Hipotesis

Ekstrak etanol kubis ungu (*Brassica oleracea* var) mengandung efek Antioksidan dengan metode DPPH (1,1- *diphenyl-2- picrylhydrazyl*).