

BABI

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia sebagai negara berkembang dan mempunyai penduduk dengan jumlah yang besar tidak terlepas dari masalah kesehatan. Penyakit degeneratif merupakan bagian dari permasalahan kesehatan di Indonesia. Beberapa contoh penyakit degeneratif antara lain stroke, gagal ginjal dan diabetes mellitus. Seiring berjalannya waktu, prevalensi penyakit-penyakit tersebut mengalami peningkatan. Berdasarkan hasil Riskesdas (Riset Kesehatan Dasar) prevalensi penyakit stroke mengalami lonjakan kasus pada tahun 2013-2018 dari 7% menjadi 10,9% kasus. Prevalensi angka kenaikan kasus pada penyakit gagal ginjal kronik pada tahun 2013-2018 dari 2% menjadi 4% dan pada penyakit diabetes mellitus menunjukkan prevalensi kasus pada tahun 2013-2018 dari 1,8% menjadi 1,9% (Gandeng *et al.*, 2022). Pada saat memasuki dan menghadapi masa pandemi COVID-19, prevalensi penyakit degeneratif diprediksi semakin meningkat karena terdapat beberapa dampak yang timbul di berbagai bidang kehidupan, mulai dari ekonomi, psikologis, sosial, spiritual dan kesehatan. Hal tersebut dapat memicu munculnya penyakit degeneratif (Linda & Rahayu, 2021).

Salah satu penyebab penyakit degeneratif adalah radikal bebas. Radikal bebas merupakan molekul yang memiliki sifat tidak stabil dan reaktif, hal ini disebabkan karena radikal bebas memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Maka untuk mencapai stabilitas, radikal bebas sangat reaktif dalam hal penarikan elektron molekul lain dalam tubuh yang berpotensi menyebabkan kerusakan pada biomolekul dengan cara merusak integritas lipid, protein dan DNA dan akhirnya menyebabkan peningkatan stress oksidatif seperti menimbulkan penyakit neurodegeneratif, DM, penyakit kardiovaskular, penuaan dini bahkan kanker (Arnanda & Nuwarda, 2019).

Tubuh manusia memerlukan asupan antioksidan dari luar saat antioksidan yang dihasilkan dalam tubuh tidak cukup untuk melawan radikal bebas. Dengan

mengonsumsi tanaman atau makanan yang mengandung agen antioksidan dapat membantu menurunkan kandungan radikal bebas dalam tubuh (Amanda *et al.*, 2019).

Indonesia sebagai negara beriklim tropis, mempunyai beragam tumbuhan obat sehingga penggunaan tumbuhan obat untuk mengatasi penyakit sudah menjadi tradisi. Salah satu tumbuhan yang dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia sebagai obat yakni tumbuhan banang-banang. Secara tradisional tumbuhan banang-banang telah dimanfaatkan sebagai tanaman obat untuk mengobati asma, diabetes, hepatitis, penyakit kulit, diare, penyakit mata dan penyakit infeksi (Henny *et al.*, 2017).

Kulit biji dan biji dari tanaman banang-banang (*Xylocarpus granatum* J.Koenig) mengandung metabolit sekunder dengan berbagai aktivitas farmakologi. Bagian bijinya mengandung tanin yang memiliki sifat antibakteri serta telah digunakan secara tradisional oleh perempuan pesisir sebagai bedak untuk perawatan kulit (Aswar *et al.*, 2021). Bagian biji juga dapat digunakan sebagai sumber antioksidan (Sapitri *et al.*, 2019), karena biji dari *Xylocarpus granatum* J.Koenig memiliki kandungan flavonoid (Yin *et al.*, 2018). Dimana diketahui bahwa senyawa aktif yang bersifat sebagai antioksidan termasuk dalam kelompok senyawa flavonoid (Noviarni *et al.*, 2020). Selain itu, bagian kulit biji dan biji mengandung senyawa limonoid yang merupakan golongan senyawa turunan triterpenoid, senyawa tersebut memiliki aktivitas farmakologi yang beragam misalnya antioksidan (Dey *et al.*, 2021). Senyawa lainnya yang memiliki aktivitas antioksidan dalam *Xylocarpus granatum* J.Koenig yaitu senyawa fenolik yang terdapat pada bagian kulit buah dari tanaman ini (Ramadani *et al.*, 2020).

Berdasarkan uraian diatas, perlu dilakukan penelitian kapasitas antioksidan dari ekstrak etanol biji dan kulit biji tanaman banang-banang dengan menggunakan metode DPPH. Dipilihnya metode DPPH dalam penelitian ini karena metode analisisnya bersifat sederhana, mudah, cepat serta sensitif terhadap sampel dengan konsentrasi yang kecil (Wulansari, 2018) dan diharapkan dengan penggunaan etanol 80% sebagai pelarut dalam ekstraksi dapat menghasilkan polifenol yang maksimal sejalan dengan penelitian Safdar *et al.* (2016).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, diperoleh rumusan masalah penelitian ini yaitu sebagai berikut:

1. Apakah ekstrak etanol biji dan kulit biji banang-banang (*Xylocarpus granatum* J.Koenig) memiliki kapasitas antioksidan?
2. Bagaimana perbandingan kapasitas antioksidan dari ekstrak etanol biji dan kulit biji banang-banang (*Xylocarpus granatum* J.Koenig)?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari dilaksanakannya penelitian ini yaitu:

1. Untuk mengetahui kapasitas antioksidan dari ekstrak etanol biji dan kulit biji banang-banang (*Xylocarpus granatum* J.Koenig).
2. Untuk mengetahui perbandingan kapasitas antioksidan dari ekstrak etanol biji dan kulit biji banang-banang (*Xylocarpus granatum* J.Koenig).

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat teoritis

Secara teoritis penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah bagi perkembangan ilmu farmasi khususnya bidang farmakologi terkait kapasitas antioksidan dari ekstrak etanol biji dan kulit biji banang-banang.

1.4.2 Manfaat praktis

Secara praktis hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai referensi bagi masyarakat mengenai manfaat biji dan kulit biji banang-banang sebagai sumber antioksidan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tumbuhan Banang-Banang

Tumbuhan banang-banang adalah tanaman pepohonan yang hidup di antara laut dan daratan yang dipengaruhi oleh pasang surut air laut (Wardani *et al.*, 2016). Tumbuhan banang-banang di Indonesia terlihat memiliki potensi yang lebih besar dibandingkan negara-negara di Asia. Sejak dahulu banang-banang telah dimanfaatkan sebagai bahan makanan, minuman, kosmetik dan obat oleh masyarakat di kawasan pesisir (Farhaeni, 2016).

2.1.1 Morfologi banang-banang

Banang-banang merupakan tumbuhan yang hidup di daerah perairan laut, estuari dan air tawar yang sangat terbatas. Morfologi tanaman banang-banang sangat unik dibandingkan dengan tanaman darat lainnya yang dapat diamati dari bentuk daun, akar tekstur kulit batang dan bentuk buah yang sangat beragam. Hal tersebut dikarenakan banang-banang berevolusi untuk merespon batas-batas kehidupan pada habitatnya dengan cara beradaptasi melalui morfologi dan fisiologinya. Model evolusi tanaman banang-banang terhadap lingkungannya yaitu terdapat macam-macam bentuk akar, warna kulit batang, bentuk buah dan keberadaan daun yang mampu mengeluarkan garam (Firdaus *et al.*, 2013).

Morfologi banang-banang dengan spesies *Xylocarpus granatum* merupakan pohon berukuran sedang dengan banir kecil dan termasuk dalam famili *Meliaceae*. Daun majemuk menyirip, 2-4 atau 6 helai, bercabang, helai daun lonjong-lonjong, membulat di ujung dan runcing di pangkal (Patil, 2019). Pada *Xylocarpus granatum*, permukaan batangnya pucat dan halus, dengan kulit batangnya yang tipis mengelupas menjadi serpihan atau bercak. *Xylocarpus granatum* memiliki akar penopang, dimana akar kabel horizontal berkembang menjadi akar papan seperti pita. Bunga *Xylocarpus granatum* bersifat musiman atau sepanjang tahun tergantung kondisi daerah. Bunga spesies *Xylocarpus granatum* memiliki ketiak,

bercabang tidak teratur, perbungaan multi-bunga, dan benang sari bersatu menjadi *staminal tube* serta disk di sekitar dasar ovarium berwarna oranye. Pada *Xylocarpus granatum* buahnya besar, bulat hingga 15–25 cm (Ragavan *et al.*, 2015). Buahnya berkayu, berdiameter 12–25 cm dan menyerupai bola meriam. Hijau saat muda dan coklat saat matang, buah memiliki empat kompartemen, berisi hingga 10 biji gabus yang mengapung untuk penyebaran air (Baba *et al.*, 2016).



Sumber: Purwanti (2016, Gambar 2.1)
Gambar 2.1 Biji *Xylocarpus granatum*

2.1.2 Klasifikasi tumbuhan banang-banang

Adapun taksonomi klasifikasi tumbuhan banang-banang (*Xylocarpus granatum*) yaitu sebagai berikut (Dey *et al.*, 2021):

Kingdom	: Plantae
Devisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Eudicots
Ordo	: Sapindales
Family	: Meliaceae
Genus	: <i>Xylocarpus</i>
Spesies	: <i>Xylocarpus granatum</i> J.Koenig

2.1.3 Kandungan kimia dan manfaat biji dan kulit biji banang-banang

Berdasarkan pustaka Hendrawan *et al.* (2015) dilakukan identifikasi senyawa fitokimia untuk mengetahui senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak metanol *Xylocarpus granatum* yang menunjukkan hasil pengujian ekstrak metanol biji *Xylocarpus granatum* positif mengandung flavonoid, saponin, tanin, dan fenol. Penapisan fitokimia dengan metode tabung reaksi dalam pustaka Yin *et al.* (2018) menunjukkan hasil uji dalam biji *Xylocarpus granatum* terdapat senyawa alkaloid, flavonoid, polifenol, fenolat, kelompok lipofilik, saponin, karbohidrat, gula pereduksi, glikosida, asam α -amino, tanin dan protein. Selain itu, biji dan kulit biji dari *Xylocarpus granatum* juga mengandung senyawa limonoid. Limonoid memiliki aktivitas farmakologis yang beragam, seperti antimikroba, antimalaria, antivirus, antikanker, antidiabetes, antioksidan, antifeedant, dan efek neuroprotektif (Dey *et al.*, 2021).

Kulit biji buah *Xylocarpus granatum* menunjukkan aktivitas antidiare yang menjanjikan pada tingkat dosis 500 mg/kg pada model mencit yang diinduksi minyak jarak (Das *et al.*, 2015). Biji buah banang-banang dapat dimanfaatkan sebagai bedak lulur, minyak dan bijinya dapat digunakan untuk minyak rambut, bermanfaat sebagai obat gatal, obat luka dan pereda demam (Farhaeni, 2016). Biji *Xylocarpus granatum* juga dapat memulihkan stamina ibu melahirkan, sakit perut dan liver (Abubakar *et al.*, 2019). Dengan cara diminum biji *Xylocarpus granatum* digunakan untuk menyembuhkan diare dan kolera sedangkan air ekstraknya dapat digunakan sebagai pembersih luka pada kulit (Saptiani, 2019). Serta biji banang-banang mengandung tanin yang memiliki sifat antibakteri (Aswar *et al.*, 2021).

2.2 Simplisia

Simplisia berupa bahan yang telah dikeringkan yang digunakan sebagai obat berasal dari bahan alamiah yang belum mengalami pengolahan apapun, kecuali dinyatakan lain. Simplisia dapat dibedakan menjadi tiga, diantaranya simplisia hewani, simplisia nabati dan simplisia pelikan atau mineral (Endarini, 2016). Simplisia hewani merupakan simplisia yang dapat berupa hewan utuh, bagian dari

hewan maupun zat bermanfaat (bukan berupa zat kimia murni) yang dihasilkan oleh hewan. Simplisia nabati merupakan simplisia yang dapat berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan seperti akar, batang, kulit batang, daun, bagian bunga dan sebagainya maupun eksudat tumbuhan. Eksudat tumbuhan yaitu isi sel yang secara spontan keluar dari tumbuhan atau isi sel yang dikeluarkan dari selnya dengan cara tertentu atau senyawa nabati lainnya yang dipisahkan dari tumbuhannya dengan cara tertentu dimana belum berupa senyawa kimia murni. Simplisia pelikan (mineral) merupakan simplisia yang berupa bahan pelikan atau mineral yang belum mengalami proses pengolahan atau telah diolah secara sederhana namun belum berupa zat kimia murni (Wahyuni *et al.*, 2014).

2.3 Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu kegiatan dengan menggunakan pelarut cair untuk penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut. Pada dasarnya, ekstraksi merupakan metode pemisahan suatu zat berdasarkan pelarut yang tepat, baik itu pelarut organik maupun pelarut anorganik (Senduk *et al.*, 2020). Proses ekstraksi khususnya untuk bahan yang berasal dari tumbuhan dimulai dari pengelompokan bagian tumbuhan seperti daun, bunga, akar, batang dan sebagainya selanjutnya dilakukan pengeringan dan penggilingan bagian tumbuhan, pemilihan pelarut (pelarut polar, semipolar atau non polar). Pelarut polar terdiri dari air, etanol, metanol dan sebagainya. Pelarut semipolar meliputi etil asetat, diklorometan dan sebagainya. Dan untuk pelarut non polar meliputi n-heksan, petroleum eter, kloroform dan sebagainya. Adapun beberapa jenis metode ekstraksi diantaranya maserasi, *ultrasound-assisted solvent extraction*, perkolasi, *sohxlet*, *reflux* dan destilasi uap (Mukhtarini, 2014).

2.3.1 Ekstraksi berbantu gelombang ultrasonik

Metode ini merupakan pengembangan dari metode maserasi. Dimana dalam teknik ekstraksi ini proses pengadukan dilakukan dengan bantuan gelombang ultrasonik dengan frekuensi 20-2000 kHz untuk meningkatkan permeabilitas sel

tanaman dan membangkitkan kavitasi (Endarini, 2016; Nugroho, 2017), yang menyebabkan pecahnya dinding sel tanaman dan akhirnya memungkinkan perkolasi pelarut dapat dengan mudah kedalam bahan yang diekstraksi (Syahir *et al.*, 2020).

Keuntungan menggunakan metode ekstraksi ini adalah mudah ditangani, aman dalam hal tekanan atmosfer dan suhu lingkungan, penggunaan pelarut yang moderat dan juga dapat dioperasikan pada suhu sedang yang cocok untuk senyawa yang peka terhadap panas. Sebaliknya, kelemahannya adalah memerlukan langkah filtrasi dan kemungkinan degradasi senyawa pada frekuensi tinggi (Syahir *et al.*, 2020).

2.4 Penapisan Fitokimia

Fitokimia (Yunani: phyton = tumbuhan) adalah senyawa kimia yang secara alami terdapat pada tumbuhan yang memiliki dampak positif atau negatif bagi kesehatan. Analisis fitokimia sangat penting untuk mengevaluasi kemungkinan kegunaan obat dari tanaman dan juga untuk menentukan senyawa aktif yang bertanggung jawab atas aktivitas biologis yang ditunjukkan oleh tanaman. Pengujian yang diterapkan untuk analisis fitokimia menentukan ada tidaknya fitokimia dalam sampel. Oleh karena itu, dua atau lebih pengujian yang berbeda harus dilakukan untuk hasil yang lebih akurat (Shaikh & Patil, 2020).

2.5 Metabolit Sekunder

Metabolit sekunder adalah molekul organik yang tidak terlibat dalam pertumbuhan dan perkembangan normal suatu organisme. Senyawa ini adalah kelompok produk alami yang sangat beragam yang disintesis oleh tumbuhan, jamur, bakteri, alga, dan hewan. Sebagian besar metabolit sekunder, seperti terpen, senyawa fenolik dan alkaloid diklasifikasikan berdasarkan asal biosintetiknya. Klasifikasi sederhana dari metabolit sekunder meliputi kelompok utama yakni terpen (seperti volatil tanaman, glikosida jantung, karotenoid dan sterol), fenolat (seperti asam fenolat, kumarin, lignan, stilbenes, flavonoid, tanin dan lignin) dan

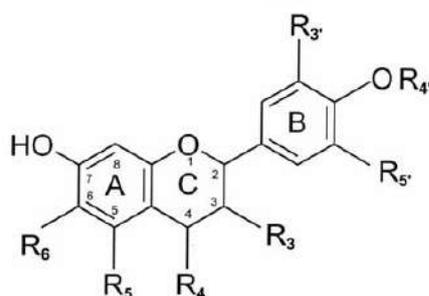
senyawa yang mengandung nitrogen (seperti alkaloid dan glukosinolat) (Agostini-Costa *et al.*, 2012). Berikut merupakan beberapa contoh senyawa metabolit sekunder:

1. Alkaloid

Alkaloid adalah golongan senyawa organik yang terjadi secara alami dan sebagian besar mengandung atom-atom basa nitrogen. Alkaloid diproduksi oleh berbagai organisme termasuk jamur, bakteri, tumbuhan, dan hewan. Alkaloid memiliki berbagai aktivitas farmakologis seperti antimalaria (misalnya kina), antikanker (misalnya homoharringtonine), antiasma (misalnya efedrin), kolinomimetik (misalnya galantamine), vasodilatasi (misalnya vincamine), analgesik (misalnya morfin), *antiarrhythmic* (misalnya quinidine), aktivitas antihiperglikemik (misalnya piperin), dan antibakteri (misalnya chelerythrine). Banyak alkaloid lain memiliki stimulan (misalnya kokain, kafein, theobromine, nikotin) dan aktivitas psikotropika (misalnya psilocin). Alkaloid juga bisa menjadi racun (misalnya tubocurarine, atropine) (Awuchi, 2019).

2. Flavonoid

Flavonoid adalah senyawa polifenol yang mengandung 15 atom karbon dengan dua cincin aromatik yang terhubung melalui jembatan 3-karbon. Gambar 2.2 menggambarkan struktur induk dari flavonoid.



Gambar 2.2 Struktur Umum Flavonoid

Flavonoid terdapat di kulit buah-buahan dan epidermis daun dan memberikan banyak fungsi penting. Senyawa ini memberikan pigmentasi ke bagian tanaman, melindungi terhadap radiasi UV dan pertahanan terhadap penyakit. Flavonoid

penting termasuk flavonol, flavon, flavan-3-ols, isoflavon, antosianidin dan flavanon. Flavonoid lain yang ditemukan dalam jumlah kecil antara lain kumarin, auron, kalkon, flavan-3,4-diol, dan dihidrokalkon (Ahmed *et al.*, 2017).

Aktivitas flavonoid bergantung dari posisi dan jumlah gugus -OH yang dalam hal ini berperan untuk menetralkan radikal bebas. Substitusi di-OH pada posisi 3' dan 4' penting untuk aktivitas pemadaman radikal dari flavonoid. Konfigurasi hidroksil cincin B adalah yang paling banyak menentukan penangkapan ROS, sedangkan substitusi cincin A dan C memiliki dampak kecil konstanta laju penangkapan radikal anion superoksida (Arifin & Ibrahim, 2018; Simamora, 2014).

3. Tanin

Tanin adalah zat, polifenol tanaman pahit yang mengikat dan mengendapkan atau menyusutkan protein. Istilah "tannin" berasal dari kata Perancis "tannin" (zat penyamak) dan digunakan untuk berbagai polifenol alami. Tumbuhan tingkat rendah seperti alga, jamur dan lumut tidak banyak mengandung tanin. Tanin biasanya ditemukan dalam jumlah besar di kulit pohon di mana mereka bertindak sebagai penghalang bagi mikroorganisme dan melindungi pohon. Selain penyamakan, tanin juga digunakan dalam pewarnaan, fotografi, pemurnian bir dan anggur serta zat dalam obat-obatan (Ashok & Upadhyaya, 2012).

4. Saponin

Saponin adalah glikosida amfifatik kompleks dari steroid dan triterpenoid yang banyak diproduksi oleh tanaman dan juga oleh organisme laut tertentu, seperti bintang laut dan teripang. Istilah saponin berasal dari bahasa latin *sapo* yang berarti sabun, karena memiliki sifat surfaktan yang membentuk busa seperti sabun yang stabil pada pengocokan dalam larutan berair. Secara kimia, istilah saponin mendefinisikan sekelompok glikosida dengan berat molekul tinggi yang terdiri dari bagian glikan yang terkait dengan aglikon yang juga disebut genin atau saponin (Faizal & Geelen, 2013).

5. Terpenoid

Terpenoid adalah keluarga produk alam terbesar dan paling beragam. Semua terpenoid disintesis melalui kondensasi unit isoprena (C_5) dan diklasifikasikan berdasarkan jumlah unit lima karbon yang ada dalam struktur inti. Banyak rasa dan

molekul aromatik, seperti mentol, linalool, geraniol dan *caryophyllene* dibentuk oleh monoterpen (C_{10}), dengan dua unit isoprena, dan seskuiterpen (C_{15}), dengan tiga unit isoprena. Senyawa bioaktif lainnya, seperti diterpen (C_{20}), triterpen (C_{30}) dan tetraterpen (C_{40}) menunjukkan sifat yang sangat khusus (Agostini-Costa *et al.*, 2012).

6. Triterpenoid

Triterpenoid adalah kelompok terpenoid yang penting karena menunjukkan keragaman aktivitas biologis yang besar dan merupakan konstituen utama dalam ekstrak tanaman obat. Triterpenoid tersebar luas di alam, dan dapat ditemukan pada buah-buahan, sayuran, sereal, jamur, pakis, tumbuhan monokotil dan dikotil, hewan dan organisme laut. Banyak laporan telah menunjukkan bahwa keluarga *Rhamnaceae*, *Cucurbitaceae*, *Ganodermataceae* dan *Apocynaceae* menghasilkan berbagai macam triterpenoid tretrasiklik, di sisi lain, keluarga *Ranunculaceae*, *Burseraceae*, *Capparidaceae*, *Celastraceae* dan *Lamiaceae* dilaporkan mengandung triterpenoid pentasiklik aktif. Molekul-molekul ini disintesis oleh tanaman sebagai pertahanan terhadap mikroba, serangga dan herbivora, yang sangat penting untuk kelangsungan hidup mereka (Rascón *et al.*, 2017).

2.6 Radikal Bebas

Radikal bebas adalah senyawa atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbit terluarnya. Adanya elektron yang tidak berpasangan menyebabkan senyawa menjadi sangat reaktif mencari pasangan, dengan cara menyerang dan mengikat elektron molekul di sekitarnya. Kerusakan membran sel oleh radikal bebas dapat terjadi dengan cara: (a) terjadi ikatan kovalen antara radikal bebas dengan komponen membran sehingga terjadi perubahan struktur fungsi reseptor; (b) oksidasi gugus tiol pada komponen membran oleh radikal bebas yang menyebabkan proses transpor membran terganggu; (c) reaksi yang mengandung peroksidasi lipid membran PUFAs (*polyunsaturated fatty acids*). Serangan radikal bebas terhadap molekul di sekitarnya akan menimbulkan reaksi berantai, yang kemudian menghasilkan radikal baru. Dampak reaktivitas radikal bebas bervariasi, mulai dari kerusakan sel atau jaringan, penyakit autoimun,

penyakit degeneratif hingga kanker. Tingginya kadar radikal bebas dalam tubuh dapat ditunjukkan dengan tingginya kadar malondialdehid (MDA) dalam plasma dan rendahnya aktivitas enzim antioksidan (Zulaikhah, 2017).

Sumber radikal bebas dalam tubuh manusia berasal dari sumber endogen dan eksogen. Sumber endogen berasal dari proses metabolisme normal dalam tubuh manusia, dari proses metabolisme tubuh menghasilkan lebih dari 90% oksigen melalui proses oksidasi makanan untuk menghasilkan energi di mitokondria yang dikenal dengan rantai transpor elektron dan akan menghasilkan radikal bebas superoksida anion. Sedangkan untuk sumber radikal bebas eksogen meliputi pencemaran lingkungan, obat-obatan, radiasi, asap rokok, penipisan ozon, bahan kimia, racun, alkohol, mikroorganisme patologis, anestesi dan pestisida dan pelarut yang digunakan untuk industri (Zulaikhah, 2017).

2.7 Stress Oksidatif

Stress Oksidatif merupakan suatu keadaan dimana terdapat peningkatan radikal bebas yang tidak diiringi oleh peningkatan antioksidan di dalam tubuh. Hal tersebut menyebabkan sel tidak berfungsi sebagai mestinya. Terjadi kerusakan pada sel terutama pada lemak, protein, dan DNA (Zulfahmidah *et al.*, 2021). Teori stres oksidatif menunjukkan bahwa stres menyebabkan degradasi sel yang menyebabkan kaskade peristiwa apoptosis dan akhirnya kematian sel. Kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas menginduksi generasi radikal superoksida, peroksinitrit dan banyak lagi radikal yang merupakan penyebab utama penuaan dan juga gangguan terkait usia seperti alzheimer, parkinson, penyakit neurodegeneratif dan gangguan terkait lainnya (Manisha *et al.*, 2017).

2.8 Antioksidan

Antioksidan adalah suatu senyawa kimia yang dapat mendonorkan satu elektronnya kepada radikal bebas yang dapat menyebabkan senyawa radikal dapat lebih stabil. Antioksidan dibutuhkan untuk mencegah terjadinya penyakit kronik serta mencegah terjadinya stres oksidatif akibat peningkatan produksi radikal bebas

yang terbentuk karena faktor stres, sinar UV, radiasi, polusi udara dan lingkungan (Berawi & Marini, 2018).

2.8.1 Klasifikasi antioksidan

Antioksidan dapat diklasifikasikan menjadi dua jenis utama berdasarkan sumbernya, yaitu antioksidan alami dan sintetis (Pal *et al.*, 2014).

1. Antioksidan alami

Antioksidan alami baik disintesis dalam tubuh manusia melalui proses metabolisme atau diperoleh dari sumber alami lainnya, dimana aktivitasnya sangat tergantung pada sifat fisik dan kimia serta mekanisme kerjanya. Ini dapat dibagi lagi menjadi dua kategori, yaitu antioksidan enzimatik dan antioksidan nonenzimatik (Pal *et al.*, 2014).

Antioksidan enzimatik diproduksi sedemikian rupa dalam tubuh manusia dan dapat dibagi lagi menjadi antioksidan primer dan sekunder. Antioksidan primer terutama meliputi (1) *Superoxide Dismutase* (SOD) yang ditemukan baik di dermis maupun epidermis. Dimana dapat menghilangkan radikal superoksida dan memperbaiki sel-sel tubuh yang rusak akibat radikal bebas, (2) *Catalase enzyme* (CAT) ditemukan dalam darah dan sebagian besar sel hidup dan menguraikan H_2O_2 menjadi air dan oksigen, dan (3) *Glutathione peroxidase* (GPx) adalah sekelompok enzim yang bergantung pada selenium, dan terdiri dari sitosol, plasma, fosfolipid hidroperoksida, dan glutathione peroksidase gastrointestinal. Sedangkan untuk antioksidan sekunder meliputi *glutathione reductase* (GR) dan *glucose-6-phosphate dehydrogenase* (G6PDH). G6PDH menghasilkan NADPH, dan GR diperlukan untuk mendaur ulang glutathione tereduksi (GSH) menggunakan enzim sekunder GR dan NADPH (Pal *et al.*, 2014).

Antioksidan Nonenzimatik adalah antioksidan yang tidak ditemukan dalam tubuh secara alami tetapi diperlukan untuk melengkapi metabolisme yang tepat. Beberapa antioksidan nonenzimatik yang dikenal adalah mineral, vitamin, karotenoid, dan polifenol (Pal *et al.*, 2014).

2. Antioksidan sintetis

Antioksidan sintetik diproduksi atau disintesis secara artifisial menggunakan berbagai teknik. Pada dasarnya mereka adalah senyawa polifenol terutama yang menangkap radikal bebas dan menghentikan reaksi berantai. Karakteristik dari beberapa antioksidan sintetik yang dikenal, seperti *butylated hydroxyanisole* (BHA), *butylated hydroxytoluene* (BHT), *ethylenediaminetetraacetic acid* (EDTA), *6-ethoxy-1,2-dihydro-2,2,4-trimethylquinoline* (ethoxyquin), *propyl gallate* (PG), and *tertiary butylhydroquinone* (TBHQ) (Pal *et al.*, 2014).

2.8.2 Mekanisme kerja antioksidan

Antioksidan enzimatik bekerja dengan cara memecah dan menghilangkan radikal bebas. Enzim antioksidan mengubah produk oksidatif berbahaya menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) dan kemudian menjadi air, dalam proses multi-langkah dengan adanya kofaktor seperti tembaga, seng, mangan, dan besi. Antioksidan non-enzimatik bekerja dengan cara menghentikan reaksi berantai radikal bebas (Nimse & Pal, 2015).

2.9 Vitamin C

Vitamin C atau asam askorbat adalah senyawa organik alami dengan sifat antioksidan, ditemukan pada hewan dan tumbuhan (Pehlivan, 2017). Vitamin C berperan sebagai antioksidan yang mampu mendonor elektron, sehingga melindungi biomolekul penting yang rusak oleh oksidan hasil metabolisme tubuh, paparan racun dan polutan. Vitamin C juga merupakan kofaktor untuk biosintesis, gen pengatur dan enzim dioksigenase (Damayanti & Budyono, 2021). Vitamin C juga disebut sebagai elektron donor (pemberi elektron) sehingga termasuk dalam senyawa antioksidan. Vitamin C sebagai pemberi elektron juga dapat dikatakan sebagai agen reduktor, dimana berasal dari sifat ikatan ganda antara C-2 dan C-3 dari cincin lakton 6 karbon tersebut sehingga vitamin C dapat mencegah senyawa-senyawa lain mengalami oksidasi (Asih *et al.*, 2022).

Vitamin C atau asam askorbat mempunyai berat molekul 176 dengan rumus molekul $C_6H_8O_6$, dalam bentuk kristal tidak berwarna, titik cair $190^\circ C - 192^\circ C$.

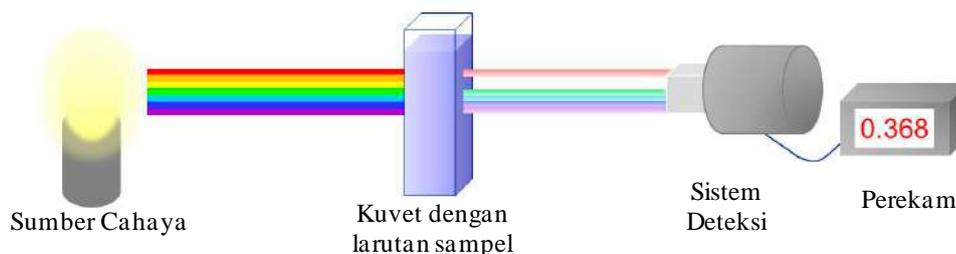
Vitamin C bersifat larut dalam air, dan sedikit larut dalam aseton atau alkohol yang mempunyai berat molekul rendah. Vitamin C mempunyai sifat yang asam dan sifat pereduksi yang kuat. Struktur kimianya terdiri dari rantai 6 atom C dan kedudukannya tidak stabil ($C_6H_8O_6$), karena mudah bereaksi dengan O_2 di udara sehingga menjadi asam dehidroaskorbat (Asih *et al.*, 2022).

2.10 Teknik yang Digunakan untuk Menilai Kapasitas Antioksidan

Sejumlah teknik digunakan untuk menilai kapasitas antioksidan, seperti spektroskopi UV-Vis, spektroskopi fluoresensi, resonansi paramagnetik elektron, uji katalis enzim dan uji kultur sel. Selain itu, ada beberapa teknik elektrokimia yang umumnya diterapkan, termasuk teknik potensial terkontrol, sensor elektrokimia, dan biosensor. Namun, teknik yang paling banyak digunakan untuk mengevaluasi kemampuan antioksidan misalnya, $ABTS^{\bullet+}$, $DPPH^{\bullet}$, kapasitas reduksi antioksidan total, misalnya, TEAC, ORAC, dan FRAP termasuk dalam teknik spektrometri. Metode ini telah umum digunakan untuk menentukan kapasitas antioksidan dari banyak ekstrak tumbuhan, makanan, dan suplemen makanan (Flieger *et al.*, 2021).

2.10.1 Spektrofotometer UV-Vis

Prinsip pengukuran spektrofotometer UV-Vis mengukur intensitas cahaya yang melewati larutan sampel dalam kuvet, dan membandingkannya dengan intensitas cahaya sebelum melewati sampel. Komponen utama spektrofotometer UV-Vis adalah sumber cahaya, pemegang sampel, perangkat dispersif untuk memisahkan panjang gelombang cahaya yang berbeda (misalnya monokromator), dan detektor yang sesuai (Caro & Claudia, 2015).



Gambar 2.3 Prinsip Pengukuran dalam Spektrofotometer UV-Vis

2.10.2 Uji DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

Untuk mengukur kekuatan antioksidan, digunakan kemampuannya untuk menonaktifkan radikal bebas. Salah satu radikal bebas stabil yang paling sering digunakan adalah DPPH. Karena adanya relokasi elektron tidak berpasangan, DPPH membentuk kation radikal yang stabil dan tidak membentuk dimer dalam larutan alkohol (Flieger *et al.*, 2021).

Larutan DPPH berwarna ungu tua dengan absorbansi maksimum pada panjang gelombang = 517 nm. Adanya reaksi dengan zat yang melepaskan atom hidrogen, bentuk tereduksi dari DPPH terbentuk, dan kemudian warna ungu larutan berubah menjadi kuning dengan penurunan absorbansi secara bersamaan. Penurunan absorbansi sebanding dengan jumlah DPPH bentuk teroksidasi yang tersisa dalam larutan. Perubahan warna dari ungu menjadi kuning dapat dipantau secara spektrofotometri dan digunakan untuk penilaian potensi radikal bebas dari banyak antioksidan dan produk alami (Flieger *et al.*, 2021).

Metode DPPH mempunyai kelebihan dan kekurangan dalam menganalisis antioksidan. Kelebihan metode DPPH yaitu metode analisisnya bersifat sederhana, mudah, cepat dan sensitif terhadap sampel dengan konsentrasi yang kecil. Namun pengujian menggunakan DPPH memiliki keterbatasan karena DPPH hanya dapat dilarutkan dalam pelarut organik menyebabkan kesulitan dalam menganalisis senyawa yang bersifat hidrofilik (Wulansari, 2018).

2.11 Analisis Statistik

Secara garis besar, terdapat dua jenis teknik analisis data yaitu analisis kuantitatif dan analisis kualitatif yang membedakannya yakni berdasarkan jenis datanya. Jenis analisis kuantitatif yang biasa digunakan adalah analisis statistik yang dapat dibagi menjadi dua kelompok yaitu statistik deskriptif dan statistik inferensial. Dalam statistik deskriptif hanya bersifat memaparkan data sedangkan statistik inferensial terdapat upaya untuk mengadakan penarikan kesimpulan dan membuat keputusan berdasarkan analisis yang dilakukan. Berdasarkan jenis analisisnya, statistik inferensial dibedakan dalam dua bagian yakni analisis

korelasional yang merupakan analisis statistik yang berusaha mencari hubungan atau pengaruh antara dua atau lebih variabel dan analisis komparasi/komparatif merupakan suatu teknik analisis statistik yang bertujuan untuk membandingkan antara dua atau lebih kelompok (Muhson, 2018). Salah satu uji komparasi yaitu uji-t, yang merupakan uji statistik untuk menguji kebenaran hipotesis dalam membedakan rata-rata pada dua sampel. Uji-t dua sampel dapat dibagi menjadi dua yaitu uji-t untuk variabel bebas (*Independent*) dan uji-t untuk sampel berpasangan (*paired*).

2.11.1 Uji-t tidak berpasangan

Uji-t dua sampel bebas merupakan uji statistik parametrik yang membandingkan dua kelompok *independent* dengan tujuan menentukan apakah terdapat bukti rata-rata dua populasi secara statistik berbeda signifikan. Data pada uji-t dua sampel bebas memiliki beberapa persyaratan yaitu: (1) variabel dependen numerik, (2) variabel *independent* kategorikal, (3) tidak terdapat hubungan antara subjek dalam setiap sampel atau kelompok, (4) pengambilan sampel pada populasi dilakukan secara acak, (5) variabel dependen memiliki data berdistribusi normal pada setiap kelompok, (6) menunjukkan varian sama dari kedua kelompok (Soeprajogo & Ratnaningsih, 2020). Analisis dilakukan dengan cara sebagai berikut: (1) bila sebaran data normal dan varian sama, gunakan uji-t tidak berpasangan untuk varian sama, (2) bila sebaran data normal dan varian berbeda, gunakan uji t-tidak berpasangan untuk varian berbeda, (3) bila sebaran data tidak normal, lakukan transformasi data. Analisis dilakukan bergantung pada sebaran dan varian hasil transformasi data. Bila sebaran tidak normal, gunakan uji *Mann-Whitney* (Dalhan, 2014).

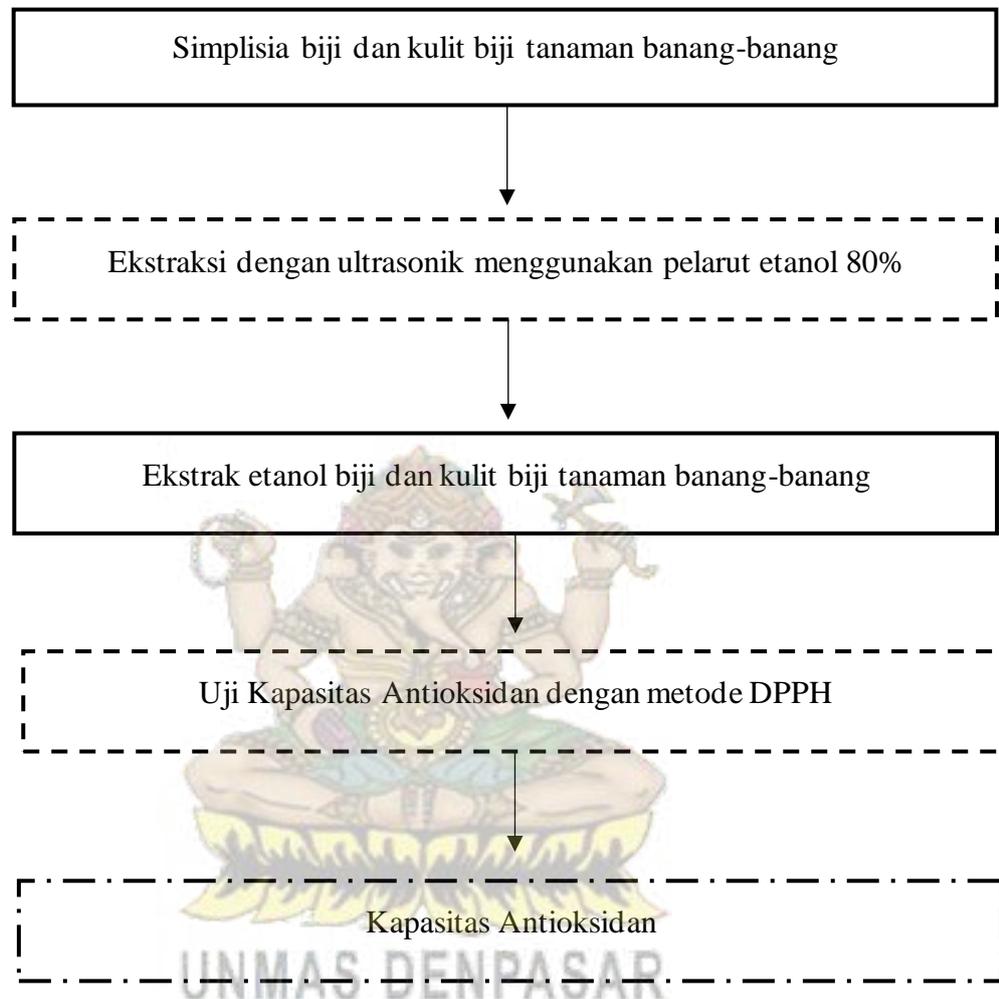
2.12 Kerangka Konseptual

2.12.1 Kerangka teori



Gambar 2.4 Kerangka Teori Penelitian

2.12.2 Kerangka konsep



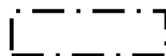
Keterangan:



Variabel Bebas



Variabel Kontrol



Variabel Terikat

Gambar 2.5 Kerangka Konsep Penelitian

2.13 Hipotesis

1. Ekstrak etanol biji dan kulit biji banang-banang (*Xylocarpus granatum* J.Koenig) diduga memiliki kapasitas antioksidan.
2. Ekstrak etanol biji dan kulit biji banang-banang (*Xylocarpus granatum* J.Koenig) diduga memiliki perbedaan kapasitas antioksidan.

