**BAB II**

**TINJAUAN PUSTAKA**

1. **Uraian Tumbuhan**
2. **Klasifikasi Tumbuhan Kopi Robusta (*Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner*)***

**Gambar 2.1** **Daun Kopi Robusta (*Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner*)***

Berdasarkan hasil identifikasi dari Laboratorium *Herbarium Medanese* (MEDA) Universitas Sumatera Utara, tumbuhan kopi robusta diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom : Plantae

Divisi : Spermatophyta

Subdivisi : Angiospermae

Class : Dicotyledoneae

Ordo : Rubiales

Famili : Rubiaceae

Genus : *Coffea*

Spesies : *Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner.

Nama Lokal : Daun Kopi Robusta

2. **Morfologi Tumbuhan Kopi Robusta**

Tanaman kopi memiliki sistem perakaran yang beragam tergantung pada kondisi lingkungan, seperti tekstur, struktur, aerasi, dan kesuburuan tanah. Struktur perakaran tanaman kopi juga dipengaruhi suhu, kelembapan, umur tanaman, produksi tanaman, manajemen kebun, serta kejadian hama dan penyakit. Tanaman kopi memiliki akar tunggang sehingga dapat tumbuh kokoh dan kuat serta tidak mudah rebah, pada akar tunggang ada beberapa akar kecil yang tumbuh ke samping (Randriani and Dani, 2018).

Batang kopi tumbuh tegak lurus ke atas dan beruas-ruas. Tinggi tanaman kopi jenis Robusta dapat mencapai 7–10 m. Perawakan tanaman kopi yang dibiarkan tumbuh tinggi tentu menyulitkan pada saat pemanenan buah sehingga perlu dilakukan pemangkasan batang pokok pada ketinggian 1–1,8 m dari permukaan tanah (Randriani and Dani, 2018).

Daun kopi berbentuk jorong, tumbuh pada batang, cabang, dan ranting yang tersusun berdampingan pada ketiak daun. Daun kopi berwarna hijau, sedangkan daun mudanya ada yang berwarna cokelat dan ada yang hijau. Daun tanaman kopi terdiri dari tangkai daun (petioles) dan helaian daun (lamina). Ujung daun kopi meruncing, sedangkan pangkal daun memiliki tepi yang tidak pernah bertemu, terpisah oleh pangkal ujung tangkai daun yang berbentuk tumpul (Randriani and Dani, 2018).

Letak bunga kopi pada ketiak daun membentuk suatu rangkaian yang bergerombol disebut bunga majemuk. Jumlah kuncup bunga pada setiap ketiak daun terbatas. Bunga tersebut tersusun dalam kelompok, masing-masing terdiri dari 4–6 kuntum bunga, pada setiap ketiak daun menghasilkan 8–18 kuntum bunga atau setiap buku menghasilkan 16–32 kuntum bunga (Randriani and Dani, 2018).

Bunga kopi berukuran kecil, mahkotanya berwarna putih dan berbau harum semerbak, kelopak bunga berwarna hijau, pangkalnya menutupi bakal buah yang mengandung dua bakal biji. Benang sari terdiri dari 5–7 tangkai yang berukuran pendek. Bila sudah siap dibuahi (reseptif) kelopak dan mahkotanya akan membuka dan segera melakukan penyerbukan, kemudian bunga akan berkembang menjadi buah (Randriani and Dani, 2018).

Kopi termasuk golongan tumbuhan Angiospermae, yaitu tumbuhan dengan biji tertutup. Buah kopi muda berwarna hijau muda, kemudian berubah menjadi hijau tua, lalu kuning, setelah matang berwarna merah atau merah hati. Daging buah kopi yang sudah matang penuh mengandung lendir dan senyawa glukosa yang rasanya manis. Buah kopi terdiri dari buah dan biji. Daging buah kopi terdiri atas tiga bagian lapisan kulit luar (eksokarp), lapisan daging (mesokarp) dan lapisan kulit tanduk (endokarp) yang tipis tetapi keras. Buah kopi umumnya mengandung dua butir biji, tetapi kadang-kadang hanya mengandung satu butir atau bahkan tidak berbiji (hampa) sama sekali (Randriani and Dani, 2018).

1. **Kandungan Tumbuhan Kopi Robusta**

Daun kopi telah digunakan secara alami dan tradisional dalam berbagai pengobatan. Sejumlah sifat kesehatan yang menguntungkan telah dikaitkan dengan kopi, antara lain adalah diuretik, antimikroba dan aktivitas antioksidan. Daun kopi robusta (*Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner) memiliki kandungan alkaloid, senyawa fenolik, karbohidrat, protein dan saponin, dengan kadar kandungan fenolik total sebesar 27,04 µg/g dan flavonoid sebesar 10,90 µg/g. Aktivitas antioksidan ekstrak daun kopi robusta berupa daya hambat radikal bebas 1,1 Diphenyl-2- pikrilhidrazil pada konsentrasi terkecil, yaitu 10 ppm menunjukkan daya hambat sebesar 79,43 % (Hasanah *et al*., 2017).

Tanaman kopi Robusta banyak mengandung berbagai zat kimia seperti kafein, trigonelin, glukosa, protein, teofilina, asam klorogenat, tannin, mineral, lemak. Daun kopi Robusta mengandung senyawa tanin, steroid, monoterpene, seskuiterpen, triterpene, flavonoid, alkaloid, saponin, dan polifenol (Kartika, 2017).

Daun kopi mengandung alkaloida, saponin, kafein, flavonoida dan polifenol. Asam fenolik yang terkandung dalam daun kopi adalah senyawa antioksidan yang dapat berfungsi menghilangkan radikal bebas di dalam tubuh. Beberapa senyawa fenol itu adalah asam kafeat, asam klorogenat, asam kumarat, asam ferulat, dan asam sinapat (Isnindar et al., 2017).

Asam fenolik yang terkandung dalam daun kopi merupakan senyawa antioksidan yang dapat berfungsi menghilangkan radikal bebas di dalam tubuh. Tingginya kandungan senyawa fenolik menunjukkan bahwa senyawa – senyawa ini berkontribusi pada aktivitas antioksidan dan menunjukkan daun kopi ini dapat dianggap sebagai minuman yang berpotensi sebagai antioksidan alami. Setelah dilakukan pengujian dapat terlihat bahwa ekstrak daun kopi memiliki kandungan antioksidan sekitar 55,43 – 89,78% (Wulandari, 2014).

1. **Simplisia**

Simplisia adalah bahan alam yang telah dikeringkan yang digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan. Pengeringan dapat dilakukan dengan penjemuran di bawah sinar matahari, diangin-angin, atau menggunakan oven, kecuali dinyatakan lain suhu pengeringan dengan oven tidak lebih dari 60°C (Kemenkes RI, 2017).

Berdasarkan hal itu maka simplisia dibagi menjadi tiga golongan, yaitu:

1. Simplisia Nabati adalah simplisia yang berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan atau eksudat tumbuhan. Eksudat tumbuhan adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tumbuhan atau dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya atau zat nabati lain yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tumbuhannya.
2. Simplisia Hewani adalah simplisia berupa hewan utuh, zat -zat yang berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa bahan kimia murni.
3. Simplisia pelican (mineral) adalah simplisia berupa bahan pelican atau mineral yang belum diolah dengan cara sederhana dan belum berupa bahan kimia murni (Kemenkes RI, 2017).
4. **Ekstraksi**

Ekstraksi merupakan suatu proses pemisahan kandungan senyawa kimia dari jaringan tumbuhan ataupun hewan dengan menggunakan penyari tertentu. Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan cara mengekstraksi zat aktif dengan menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian, hingga memenuhi baku yang ditetapkan. Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi hasil ekstraksi adalah jenis pelarut, metode ekstraksi dan lama ekstraksi (Ditjen POM, 2000).

1. **Cara Dingin**
   * + - 1. Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, dan seterusnya.

* + - * 1. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (exhaustive extraction) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Proses terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan/penampungan ekstrak), terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1 – 5 kali bahan.

1. **Cara Panas**
2. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

1. Soxhlet

Soxhlet adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relative kosntan dengan adanya pendingin balik.

1. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperature ruangan (kamar), yaitu secara umum dilakukan pada temperature 40 - 50 °C.

1. Infus

Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur terukur 96 - 98 °C) selama waktu tertentu (15 – 20 menit).

1. Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama (≤30°C) dan temperatur sampai titik didh air.

1. Destilasi uap

Destilasi uap adalah ekstraksi senyawa kandungan menguap (minyak atsiri) dari bahan (segar atau simplisia) dengan uap air berdasarkan peristiwa tekanan parsial senyawa kandungan menguap dengan fase uap air dari ketel secara kontinu sampai sempurna dan diakhiri dengan kondensasi fase uap campuran (senyawa kandungan menguap ikut terdestilasi) menjadi destilat air Bersama senyawa kandungan yang memisah sempurna atau memisah Sebagian ekstraksi (Ditjen POM, 2000).

1. **Fraksinasi**

Fraksinasi merupakan metode pemisahan komponen campuran yang berasal dari ekstrak hasil ekstraksi. Fraksinasi dilakukan untuk memisahkan golongan utama kandungan yang satu dari golongan utama yang lainnya berdasarkan perbedaan kepolaran. Metode fraksinasi yang biasa digunakan adalah dengan ekstraksi cair-cair dan kromatografi. Proses fraksinasi ekstrak secara ekstraksi cair-cair dilakukan berdasarkan perbedaan kelarutan atau koefisien partisi senyawa diantara dua pelarut yang saling tidak bercampur. Metode kromatografi dilakukan berdasarkan perbedaan waktu huni masing-masing zat dalam fase gerak-fase diam (Harborne, 1987).

Tujuan umum fraksinasi adalah untuk menyederhanakan komposisi dan homogenitas sifat zat sehingga lebih mudah dimurnikan atau diisolasi menjadi senyawa tunggal atau zat murni. Untuk proses fraksinasi berdasarkan tingkat kepolarannya umumnya digunakan pelarut secara berurutan yaitu dari non polar hingga pelarut polar. Manfaat penggunaan pelarut yang berbeda polaritas adalah untuk menyederhanakan kompleksitas ekstrak. Hal ini sangat memudahkan isolasi zat aktif dari ekstrak. Selain itu, golongan senyawa tertentu mungkin memiliki kelarutan tinggi dalam pelarut tertentu, yang dapat menyederhanakan kerumitan ekstrak dan membantu proses isolasi (Harborne, 1987)

1. **Skrinning Fitokimia**

Fitokimia merupakan ilmu pengetahuan yang menguraikan aspek kimia suatu tanaman. Kajian fitokimia meliputi uraian yang mencangkup aneka ragam 19 senyawa organik yang dibentuk dan disimpan oleh organisme, yaitu struktur kimianya, biosintesisnya, perubahan serta metabolismenya, penyebarannya secara alamiah dan fungsi biologisnya, isolasi dan perbandingan komposisi senyawa kimia dari bermacam-macam jenis tanaman. Analisis fitokimia dilakukan untuk menentukan ciri komponen bioaktif suatu ekstrak kasar yang mempunyai efek racun atau efek farmakologis lain yang bermanfaat bila diujikan dengan sistem biologi atau bioassay (Harborne, 1987).

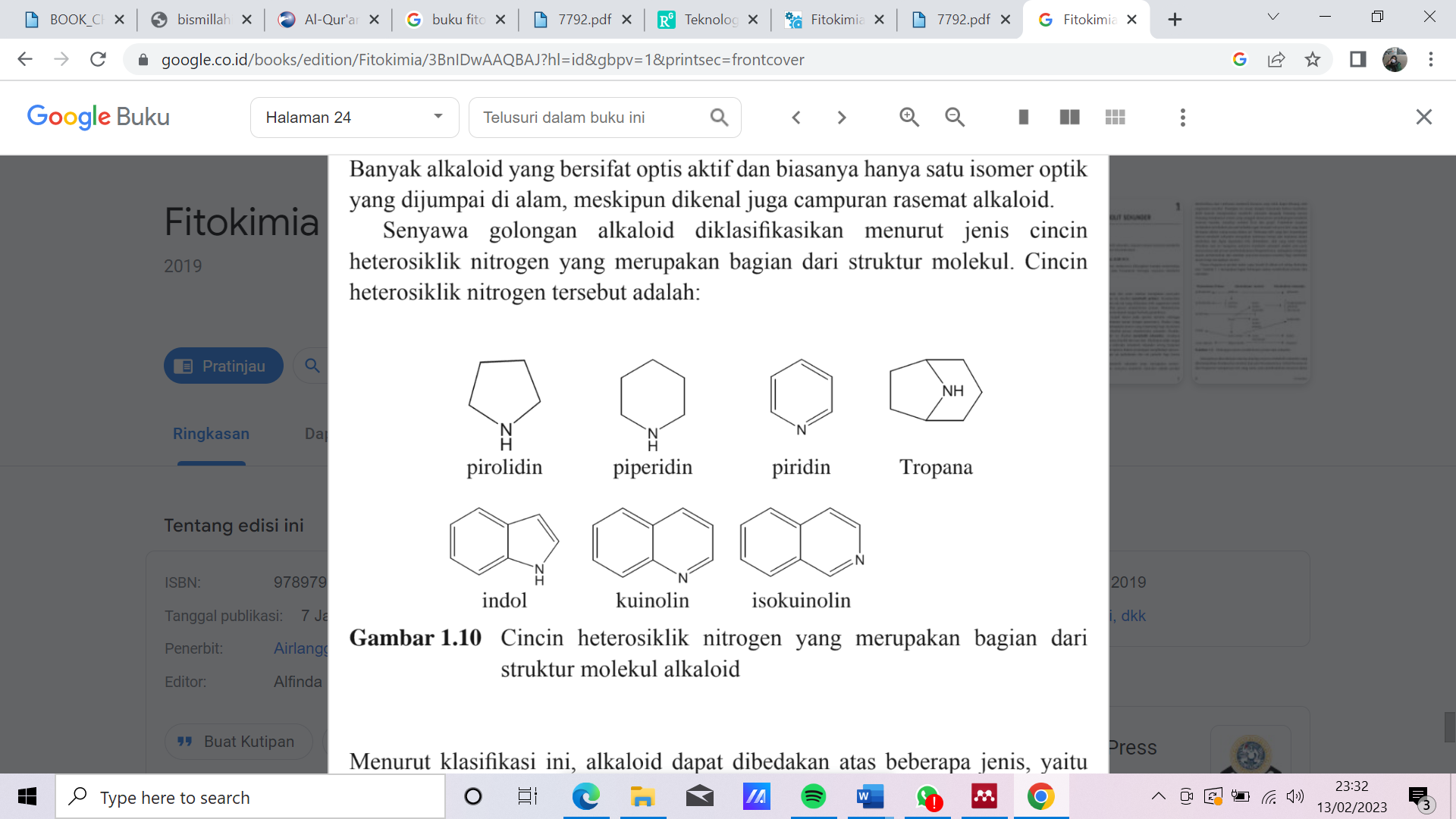
Skrining fitokimia merupakan cara untuk mengidentifikasi bioaktif yang belum tampak melalui suatu tes atau pemeriksaan yang dapat dengan cepat memisahkan antara bahan alam yang memiliki kandungan fitokimia tertentu dengan bahan alam yang tidak memiliki kandungan fitokimia tertentu. Skrining fitokimia merupakan tahap pendahuluan dalam suatu penelitian fitokimia yang bertujuan untuk memberikan gambaran tentang golongan senyawa yang terkandung dalam tanaman yang sedang diteliti. Metode skrining fitokimia dilakukan dengan melihat reaksi pengujian warna dengan menggunakan suatu pereaksi warna. Hal penting ang berperan penting dalam skrining fitokimia adalah pemilihan pelarut dan metode ekstraksi (Kristianti *et al*., 2008).

Skrining fitokimia serbuk simplisia dan sampel dalam bentuk basah meliputi pemeriksaan kandungan senyawa alkaloida, flavonoida, terpenoida/ steroida, tanin dan saponin menurut prosedur yang telah dilakukan oleh Harbone (Harbone, 1987) dan Depkes (Depkes, 1995).

1. **Metabolit Sekunder**
2. **Alkaloid**

Alkaloid adalah suatu golongan senyawa organik yang terbanyak ditemukan di alam. Hampir seluruh alkaloid berasal dari tumbuh-tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan. Ciri khas alkaloid adalah bahwa sema alkaloid mengandung paling sedikit satu atom N yang bersifat basa dan pada umumnya merupakan bagian dari cincin heterosiklik (batasan ini tidak terlalu tepat karena banyak senyawa heterosiklik nitrogen lain yang ditemukan di alam yang bukan tergolong alkaloid) (Kristanti, *et al* 2008).

Sampai saat ini lebih dari 5000 senyawa alkaloid yang telah ditemukan dan hampir semua alkaloid yang ditemukan di alam mempunyai keaktifan fisiologis tertentu. Alkaloid dapat ditemukan dalam berbagai bagian tumbuhan, tetapi sering kali kadar alkaloid dalam jaringan tumbuhan ini kurang dari 1% Penetapan struktur alkaloid juga memakan banyak waktu karena kerumitannya, di samping mudahnya molekul mengalami reaksi penataan ulang. Alkaloid dapat dipisahkan dari sebagian besar komponen tumbuhan yang lain berdasarkan sifat basanya. Oleh karena itu, senyawa golongan ini sering diisolasi dalan bentuk garamnya dengan HCI atau H2SO4, Garam ini atau alkaloid bebasnya berbentuk padat membentuk kristal yang tidak berwarna Banyak alkaloid yang bersifat optis aktif dan biasanya hanya satu isomer optik yang dijumpai di alam, meskipun dikenal juga campuran rasemat alkaloid (Kristanti, *et al* 2008).

Senyawa golongan alkaloid diklasifikasikan menurut jenis cincin heterosiklik nitrogen yang merupakan bagian dari struktur molekul. Cincin heterosiklik nitrogen tersebut adalah:

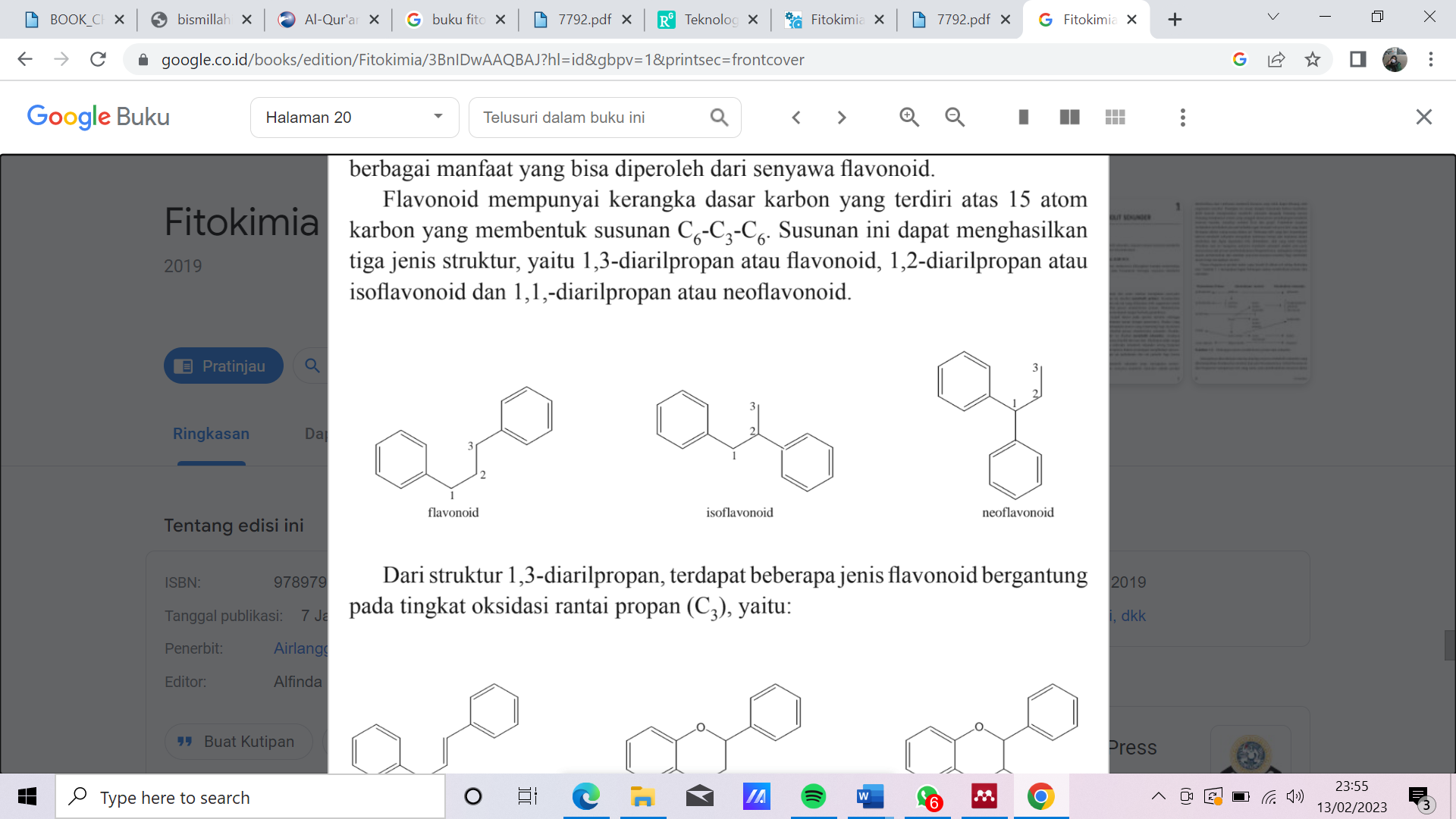
**Gambar 2.2** **Cincin heterosiklik yang merupakan bagian dari Struktur Molekul Alkaloid (Kristanti *et al.,* 2008)**

1. **Flavonoid**

Flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol yang terbesar yang ditemukan di alam. Banyaknya senyawa flavonoid ini bukan disebabkan karena banyaknya variasi struktur, akan tetapi lebih disebabkan oleh berbagai tingkat hidroksilasi, alkoksilasi atau glikosilasi pada struktur tersebut. Flavonoid di alam juga sering dijumpai dalam bentuk glikosidanya (Kristanti, *et al* 2008).

Senyawa-senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu, biru dan sebagian zat warna kuning yang terdapat dalam tanaman. Sebagai pigmen bunga, flavonoid jelas berperan dalam menarik serangga untuk membantu proses penyerbukan. Beberapa kemungkinan fungsi flavonoid yang lain bagi tumbuhan adalah sebagai zat pengatur tumbuh, pengatur proses fotosintesis, sebagai zat antimikroba, antivirus dan antiinsektisida. Beberapa flavonoid sengaja dihasilkan oleh jaringan tumbuhan sebagai respons terhadap infeksi atau luka yang kemudian berfungsi menghambat fungi menyerangnya (Kristanti, *et al* 2008).

Telah banyak flavonoid yang diketahui memberikan efek fisiologis tertentu. Oleh karena itu, tumbuhan yang mengandung flavonoid banyak dipakai dalam pengobatan tradisional. Penelitian masih terus dilakukan untuk mengetahui berbagai manfaat yang bisa diperoleh dari senyawa flavonoid. Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri atas 15 atom karbon yang membentuk susunan C6-C3-C6. Susunan ini dapat menghasilkan tiga jenis struktur, yaitu 1,3-diarilpropan atau flavonoid, 1,2-diarilpropan atau isoflavonoid dan 1,1-diarilpropan atau neoflavonoid (Kristanti, *et al* 2008).

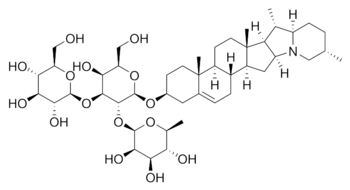


**Gambar 2.3** **Struktur Flavonoid**

1. **Saponin**

Senyawa ini memberikan efek pembentukan gelombung yang permanen pada saat digojok bersama air. Senyawaan ini juga menyebabkan terjadinya hemolysis pada sel darah merah. Contoh senyawa glikosida saponin adalah liquorice. Senyawa ini memiliki aktivitas ekspektoran, dan anti-inflamasi (Julianto, 2019).

Ciri utama saponin adalah terbentuknya busa ketika dimasukkan dalam air. Pada umumnya saponin ditemukan dalam bentuk glikosida sebagai amphipatic glycoside, yaitu glikosida yang memiliki sifat hidrofilik (suka air) maupun lipofilik (suka minyak), seperti sifat pada sabun atau sampo. Aglicone atau struktur tanpa gula dari saponin dinamakan sapogenin. Sapogenin mengandung steroid atau triterpene lain sebagai fitur organik utama. Steroid merupakan komponen organik yang terdiri dari empat cincin yang tersusun dengan konfigurasi yang unik (Nugroho, 2017).



**Gambar 2.4** **Struktur Saponin (Nugroho, 2017).**

Saponin mudah terlarut dalam air dan bersifat racun terhadap ikan atau hewan berdarah dingin lainnya, sehingga ada beberapa praktik meracuni ikan dengan bahan-bahan tumbuhan yang mengandung saponin. Selain itu, Saponin memiliki manfaat lain seperti sebagai senyawa anti-inflmatori, sebagai bahan dalam pembuatan sampo, industri farmasi, agen pembentuk busa pada pemadam kebakaran, serta dapat dimanfaatkan sebagai agen pembasmi hama udang (Nugroho, 2017).

1. **Tanin**

Tanin adalah suatu senyawa fenolik yang memberikan rasa pahit dan sepat/kelat, dapat bereaksi dan menggumpalkan protein atau senyawa organic lainnya yang mengandung asam amino dan alkaloid (Julianto, 2019).

Tanin (dari bahasa inggris tannin, dari bahasa Jerman Hulu Kuno tanna, yang berarti “pohon ek” atau “pohon berangan” pada mulanya merujuk pada penggunaan bahan tannin nabati dari pohon ek untuk menyamak belulang (kulit mentah) hewan agar menjadi masak yang awet dan lentur (penyamakan). Namun kini pengertiannya meluas, mencakup berbagai senyawa polifenol berukuran besar yang mengandung cukup banyak gugus hidroksil dan gugus lainnya yang sesuai (misalnya gugus karboksil) membentuk ikatan kompleks yang kuat dengan protein dan makromolekul yang lain. Senyawa-senyawa Tanin ditemukan pada banyak jenis tumbuhan. Senyawa ini berperan penting untuk melindungi tumbuhan dari pemangsaan oleh herbivora dan hama, serta sebagai agen pengatur dalam metabolisme tumbuhan. Tanin memiliki berat molekul berkisar antara 500 sampai 3000 (ester asam galat) dan lebih besar dari 20.000 (proantosianidin.) Tanin dikelompokkan menjadi dua bentuk senyawa yaitu:

1. Tanin Terhidrolisis Tanin dalam bentuk ini adalah tannin yang terhidrolisis oleh asam atau enzim menghasilkan asam galat dan asam elagat. Secara kimia, tannin terhidrolisis dapat merupakan ester atau asam fenolat. Asam galat dapat ditemukan dalam cengkeh sedangkan asam elagat ditemukan dalam daun Eucalyptus. Senyawa tannin bila direaksikan dengan feri klorida akan menghasilkan perubahan warna menjadi biru atau hitam
2. Tannin terkondensasi Tanin jenis ini resisten terhadap reaksi hidrolisis dan biasanya diturunkan dari senyawa flavonol, katekin, dan flavan-3,4-diol. Pada penambahan asam atau enzim, senyawaan ini akan terdekomposisi menjadi plobapen. Pada proses destilasi, tannin terkondensasi berubah menjadi katekol, oleh karenanya sering disebut sebagai tannin katekol. Tanin jenis ini dapat ditemukan dalam kayu pohon kina dan daun teh. Tanin terkondensasi akan menghasilkan senyawa berwarna hijau ketika ditambahkan dengan ferri klorida (Julianto, 2019).
3. **Steroid dan terpenoid**

Steroid adalah kelompok senyawa bahan alam yang kebanyakan strukturnya terdiri atas 17 atom karbon dengan membentuk struktur dasar 1,2-siklopentenoperhidrofenantren. Steroid terdiri atas beberapa kelompok senyawa yang pengelompokannya didasarkan pada efek fisiologis yang dapat ditimbulkan. (Kristanti *et al.,* 2008). Struktur dasar senyawa steroid dapat dilihat pada gambar berikut:

## 

**Gambar 2.5** **Struktur Dasar Steroid (Kristanti et al., 2008).**

Ditinjau dari segi struktur, perbedaan antara berbagai kelompok ini ditentukan oleh jenis substituen R1, R2, dan R3, yang terikat pada kerangka dasar sedangkan perbedaan antara senyawa yang satu dengan senyawa yang lain dari satu kelompok ditentukan oleh panjangnya rantai karbon substituen, gugus fungsi yang terdapat pada substituen, jumlah dan posisi gugus fungsi oksigen dan ikatan rangkap pada kerangka dasar serta konfigurasi pusat asimetris pada kerangka dasar. Kelompok-kelompok tersebut adalah sebagai berikut, yaitu sterol, asam empedu, hormon kelamin, hormon adrenokortikoid dan aglikon kardiak (Kristanti *et al.,* 2008).

Terpenoid adalah kelompok senyawa metabolit sekunder yang terbesar, dilihat dari jumlah senyawa maupun variasi kerangka dasar strukturnya. Terpenoid ditemukan berlimpah dalam tanaman tingkat tinggi, meskipun demikian, dari penelitian diketahui bahwa jamur, organisme laut dan serangga juga menghasilkan terpenoid. Selain dalam bentuk bebasnya, terpenoid di alam juga dijumpai dalam bentuk glikosida, glikosil ester dan iridoid. Terpenoid juga merupakan komponen utama penyusun minyak atsiri. Senyawa-senyawa yang termasuk dalam kelompok terpenoid diklasifikasikan berdasarkan jumlah atom karbon penyusunnya, sebagaimana dapat dilihat pada Tabel 2.1:

**Tabel 2.1. Klasifikasi terpenoid**

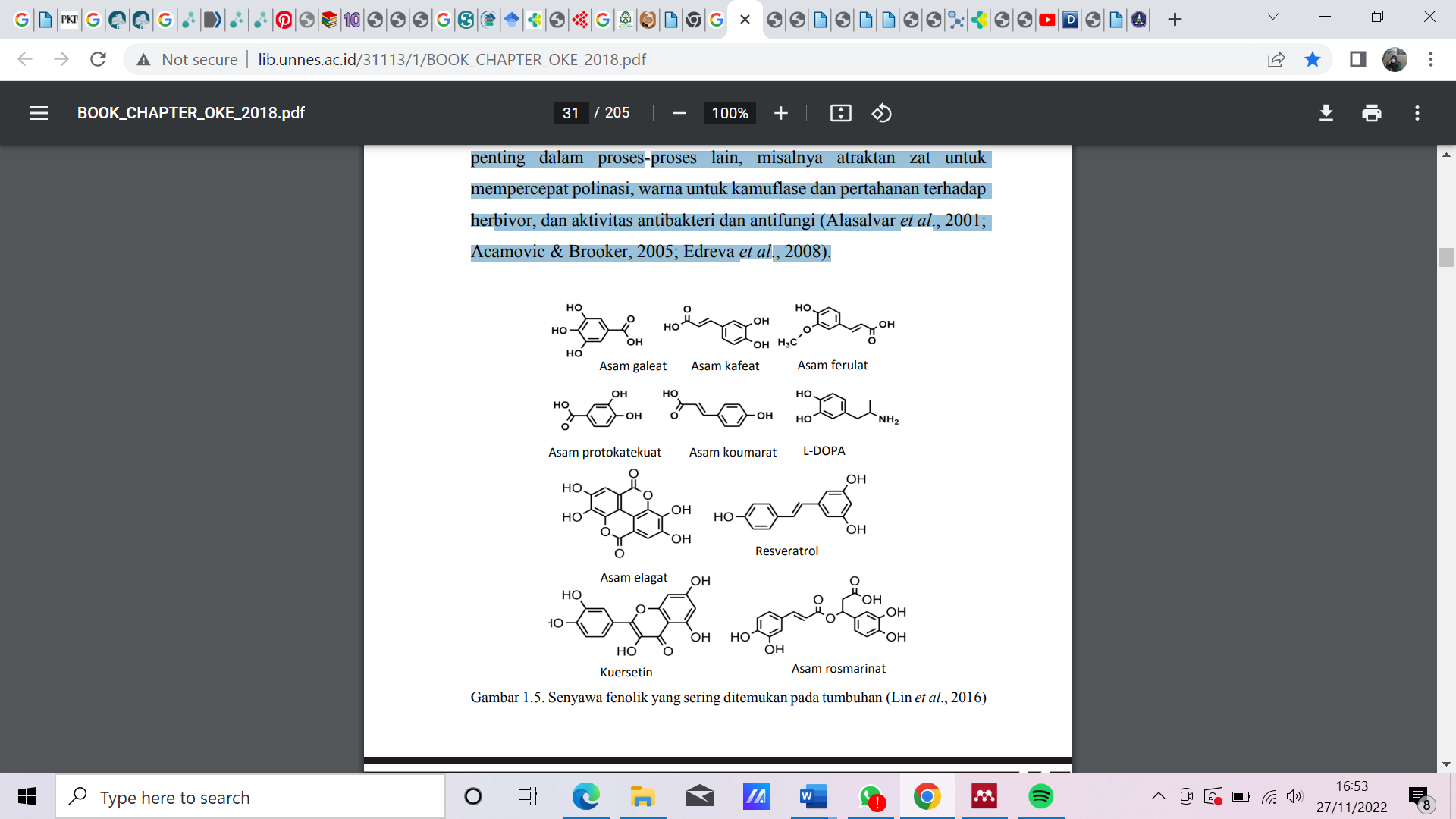
|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| No | Kelompok Terpenoid | Jumlah Atom C |
| 1 | Monoterpen | 10 |
| 2 | Sesquiterpene | 15 |
| 3 | Diterpene | 20 |
| 4 | Triterpene | 30 |
| 5 | Tetraterpene | 40 |
| 6 | Politerpen | >40 |

(Sumber: Kristanti *et al*., 2008)

1. **Senyawa Fenolik**

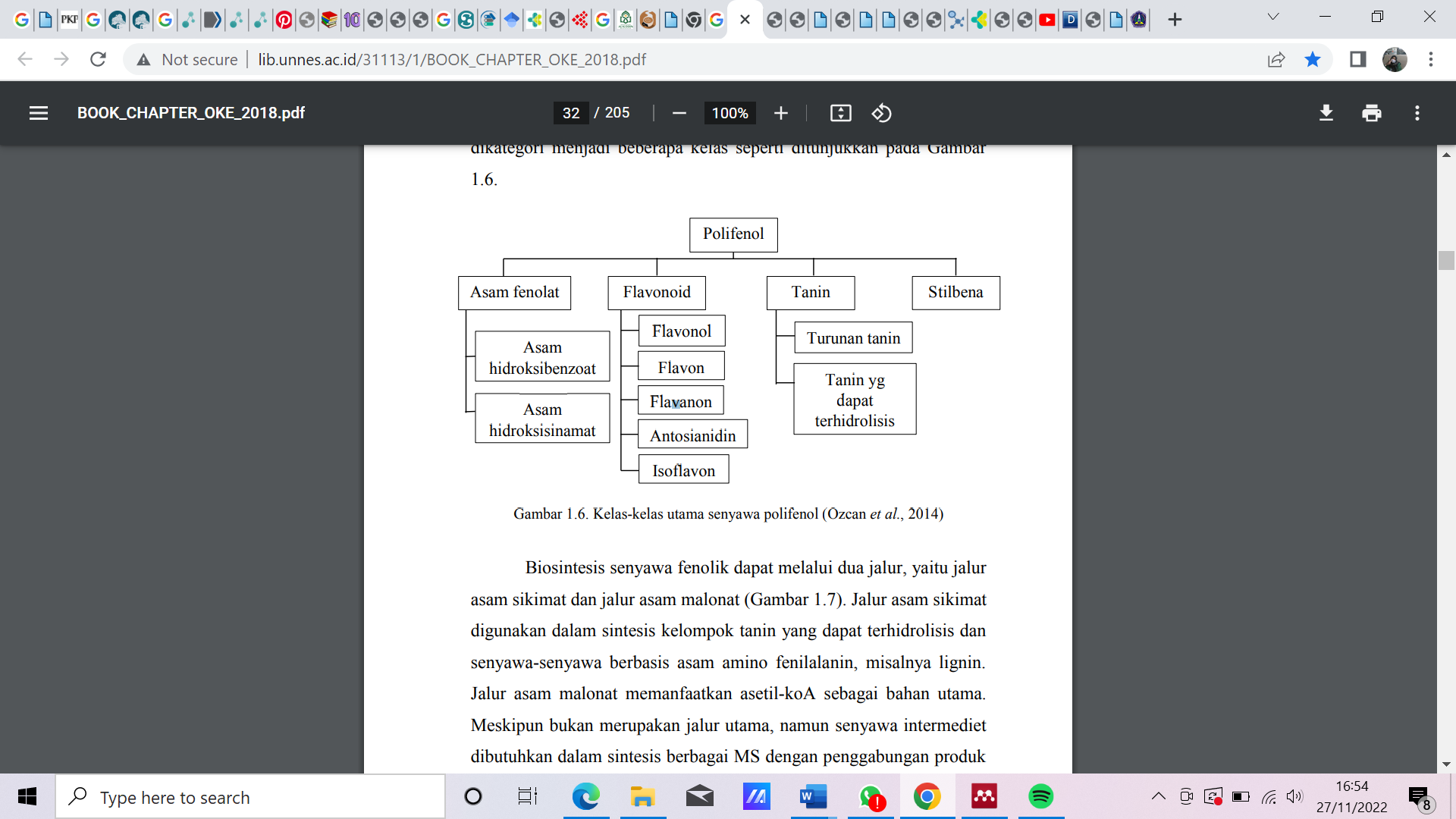
Tumbuhan memproduksi berbagai jenis metabolit sekunder yang mengandung gugus fenol, suatu hidroksil fungsional pada cincin aromatik. Senyawa ini diklasifikasikan sebagai senyawa fenolik atau fenolik. Fenolik tumbuhan merupakan kelompok yang secara kimiawi heterogen, hampir 10.000 berupa senyawa tunggal: (1) ada yang hanya larut di pelarut organik, (2) ada yang berupa asam-asam karbosilat dan glikosida yang larut air, dan (3) yang lain merupakan polimer tak larut berukuran besar. Senyawa fenolik terdiri dari berbagai kelompok: flavonoid sederhana, asam-asam fenolat, flavonoid kompleks, dan antosianin (Rahayu *et al.,* 2015).

Fenolik adalah senyawa yang mempunyai sebuah cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksil. Kelompok senyawa fenolik dan polifenol adalah fenol sederhana, asam fenolat, kumarin, tanin, dan flavonoid. Dalam tanaman, senyawa-senyawa ini biasanya berada dalam bentuk glikosida atau esternya. Standar yang digunakan pada analisis kandungan fenolik adalah asam galat, hal ini karena asam galat bersifat stabil, memiliki sensitivitas yang tinggi, dan harganya cukup terjangkau. Senyawa fenol cenderung mudah larut dalam pelarut polar karena umumnya mereka seringkali berikatan dengan gula sebagai glikosida, dan biasanya terdapat dalam vakuola sel (Harbone, 1987). Kandungan fenolik dari standar asam galat ditentukan dengan menggunakan metode Folin-Ciocalteau (Rahayu *et al.,* 2015).

Fungsi senyawa fenol yang sudah diketahui adalah sebagai pembangun dinding sel pigmen bunga dan enzim. Senyawa fenol tersebar luas pada dunia tumbuhan, terutama dalam tumbuhan yang memiliki senyawa aromatic. Strukturnya dimulai dari yang sederhana dengan satu cincin aromatik hingga kompleks merupakan polimer, sebagai contoh tannin dan lignin (Angraito *et.al,* 2018).

**Gambar 2.6** **Senyawa fenolik yang sering ditemukan pada tumbuhan (Lin *et al.,* 2016)**

Aktivitas antioksidan dari senyawa fenolik telah diketahui karena sifat redoksnya, yang memungkinkan senyawa fenolik dapat berperan sebagai agen pereduksi, pendonor hidrogen, pemadam singlet oksigen, dan sebagai pengkhelat logam (Karadeniz *et al*., 2005). Senyawa fenolik secara sederhana dapat dikategori menjadi beberapa kelas seperti ditunjukkan pada Gambar:



**Gambar 2.7** **Kelas-kelas utama senyawa polifenol (Ozcan *et al.,* 2014)**

Biosintesis senyawa fenolik dapat melalui dua jalur, yaitu jalur asam sikimat dan jalur asam malonat. Jalur asam sikimat digunakan dalam sintesis kelompok tanin yang dapat terhidrolisis dan senyawa-senyawa berbasis asam amino fenilalanin, misalnya lignin. Jalur asam malonat memanfaatkan asetil-koA sebagai bahan utama. Meskipun bukan merupakan jalur utama, namun senyawa intermediet dibutuhkan dalam sintesis berbagai MS dengan penggabungan produk senyawa intermediet dari jalur asam sikimat, misalnya dalam Tanin Stilbena Tanin yang dapat terhidrolisis Turunan tanin Asam fenolat Asam hidroksibenzoat fenolat Asam hidroksisinamat Flavonoid Flavon Flavonol Flavanon Antosianidin Isoflavon Polifenol 14 pembentukan kelompok flavonoid atau tanin yang tidak mudah terhidrolisis (Angraito *et.al,* 2018)

1. **Hubungan Fenolik dengan Kesehatan**

Senyawa metabolit sekunder dari tumbuhan dapat bertindak sebagai sumber potensial karena bersifat fotoprotektif. Senyawa metabolit sekunder yang memiliki aktivitas fotoprotektif yaitu senyawa fenolik dan didukung oleh adanya senyawa yang bersifat antioksidan (Krisyanella & Meinisasti, 2022).

Senyawa fenolik merupakan senyawa yang cukup luas penggunaannya. Kemampuannya memberikan peran besar sebagai senyawa biologik terhadap kepentingan manusia. Salah satu contoh sebagai antioksidan dalam mencegah dan mengobati penyakit degeneratife, kanker, penuaan dini dan gangguaan sistem imun tubuh (Wahdaningsih *et al*., 2017)

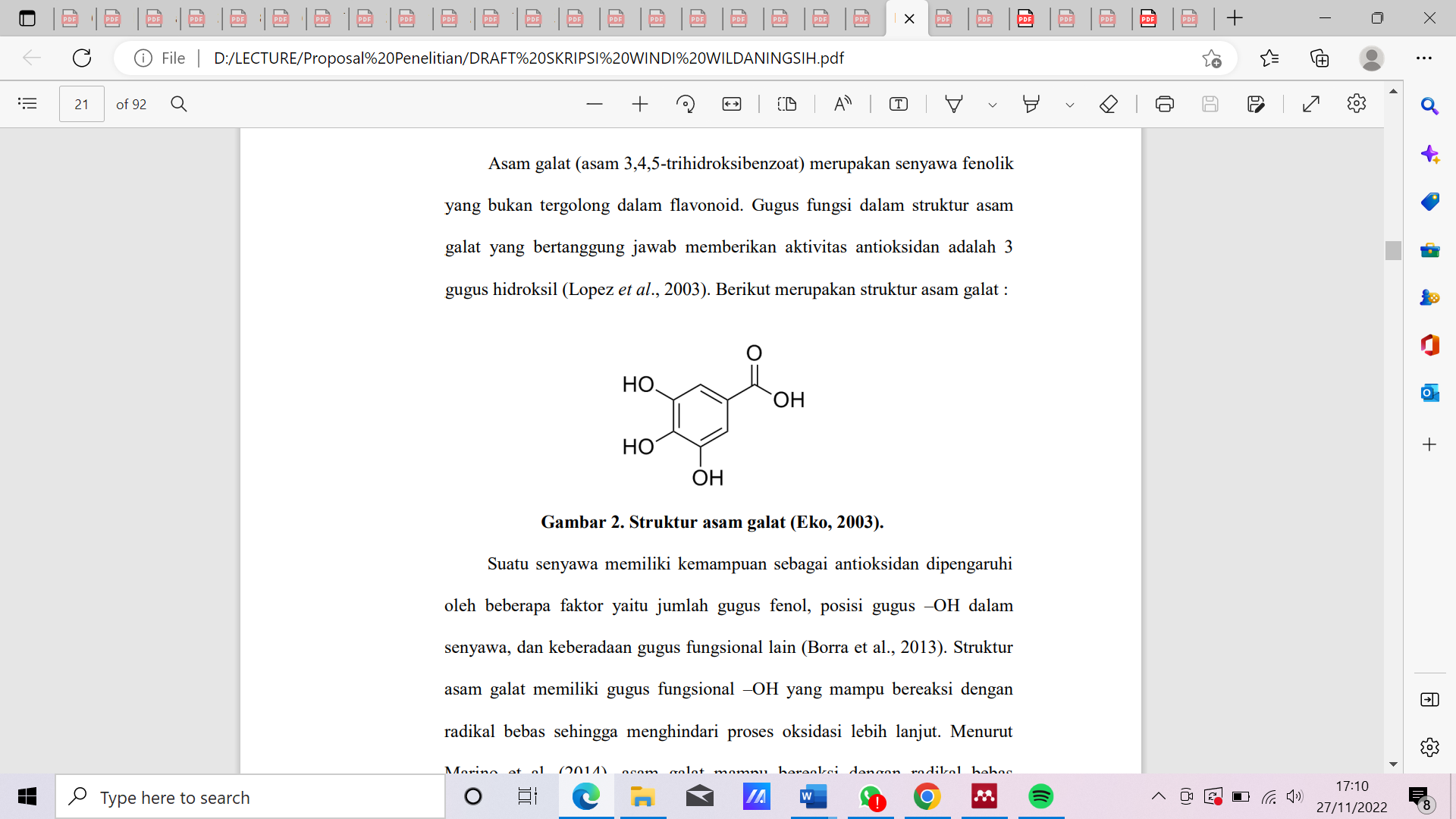
Senyawa-senyawa fenolik memiliki berbagai aktivitas biologis salah satunya sebagai antioksidan. Senyawa fenolik meredam radikal bebas dengan cara mendonorkan satu elektron dari gugus -OH sehingga dapat menstabilkan radikal bebas. Senyawa fenolik dilaporkan menunjukkan hubungan yang sinergis antara kadar fenolik total dengan aktivitas antioksidan. Semakin tinggi kadar fenolik, maka semakin tinggi aktivitas antioksidan suatu ekstrak (Febriyanto *et al*., 2021).

Antioksidan digolongkan menjadi dua, yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetis atau buatan. Antioksidan alami dapat ditemukan dalam biji, batang, daun, bunga, dan buah dari tumbuhan tertentu. Antioksidan alami diantaranya merupakan senyawa turunan fenol, tokoferol. Kumarin, asam askorbat, hidroksi sinamat dan dihidroflavon yang memiliki banyak manfaat bagi kesehatan. Senyawa fenolik merupakan salah satu senyawa yang penggunaannya cukup luas. Menurut penelitian sebelumnya, tumbuhan-tumbuhan dengan kadar fenol tinggi juga memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi, hal ini dikarenakan senyawa-senyawa antioksidan sebagian besarnya merupakan senyawa turunan fenol (Retnaningtyas *et al*, 2017).

Antioksidan merupakan senyawa kimia yang memilki kemampuan untuk memberikan hidrogen radikal untuk memadamkan oksigen radikal, sehingga tercapai keseimbangan oksidan-antioksidan, yang dapat mengatur fungsi sistem imun dalam menjaga integritas fungsi lipida membran, protein seluler, asam nukleat serta mengatur ekspresi gen, yang dapat mencegah timbulnya kanker (Pristiana & Susanti, 2017).

1. **Asam Galat**

Asam galat (asam 3,4,5-trihidroksibenzoat) merupakan senyawa fenolik yang bukan tergolong dalam flavonoid. Gugus fungsi dalam struktur asam galat yang bertanggung jawab memberikan aktivitas antioksidan adalah 3 gugus hidroksil (Lopez et al., 2003). Berikut merupakan struktur asam galat:



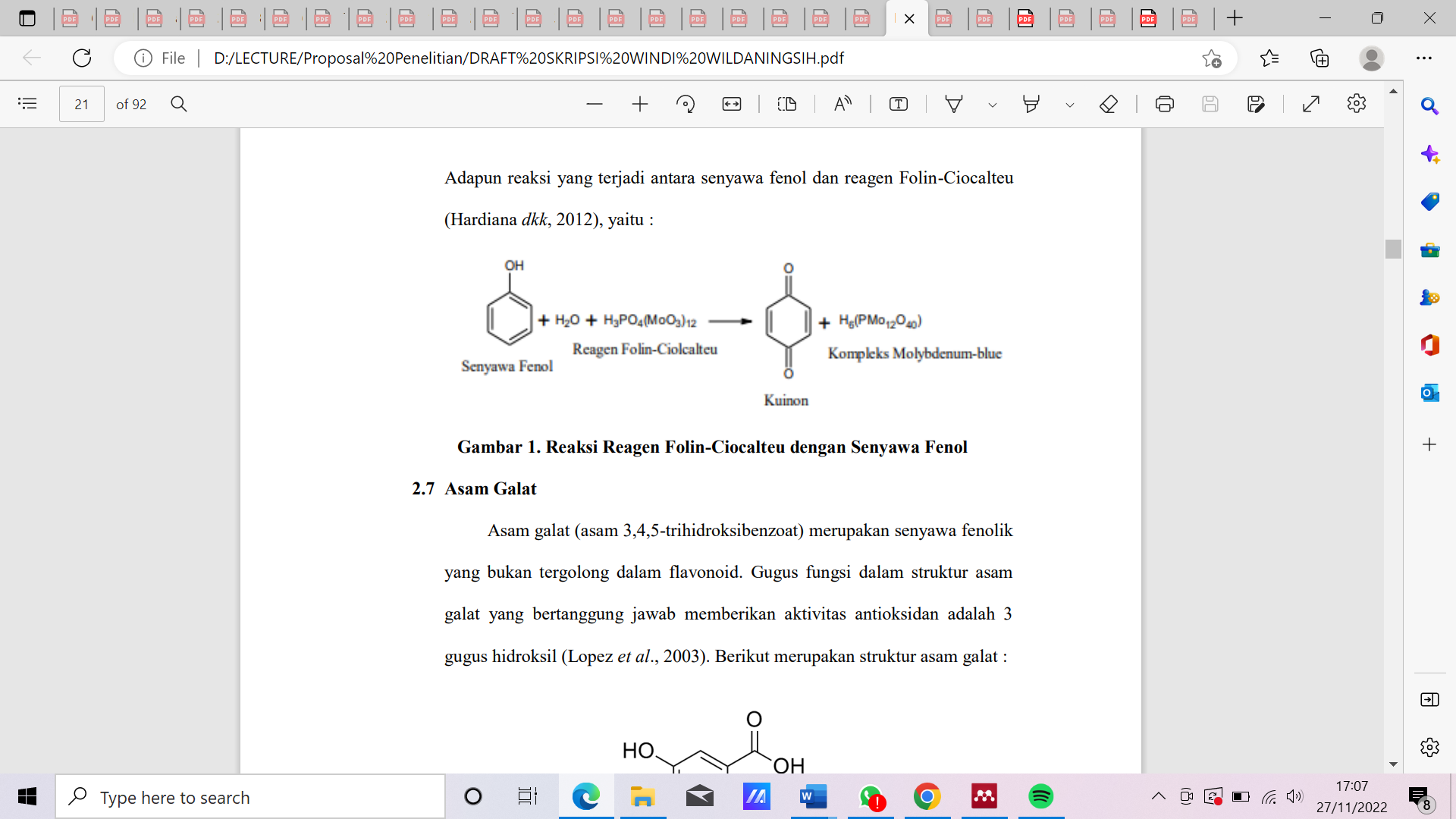
**Gambar 2.8** **Struktur asam galat (Lopez et al., 2003)**

Asam galat sering digunakan dalam banyak penelitian terkait penetapan kandungan fenolik total sebagai ekivalen terhadap kandungan fenolik total bahan tumbuhan yang diuji (Javanmardi, Stushnoff, Locke, dan Vivanco, 2003). Asam galat digunakan sebagai standar dalam penetapan kandungan fenolik total karena asam galat terbentuk dari 3-dehydroshikimic acid pada jalur sikimat yang melalui seragkaian tahapan reaksi kimia hingga diperoleh asam amino aromatik yaitu L-phenylalanine, L-tyrosine yang merupakan bentuk dari struktur dasar yang ditemukan pada cinamic acid, 15 coumarins, lignans dan flavonoids (Lopez et al., 2003).

1. **Folin-Ciocalteu**

Metode *Folin Ciocalteu* adalah salah satu metode penentuan kadar senyawa

fenolat yang spesifik. Metode *Folin Ciocalteu* bekerja dengan cara mengoksidasi senyawa yang membentuk kromogen yang dapat dideteksi oleh spektrofotometer pada daerah sinar tampak. Keuntungan dari penggunaan metode ini adalah menggunakan jumlah pereaksi yang sedikit. Folin Ciocalteu merupakan pereaksi fenol yang bekerja dengan cara mereduksi senyawa fenolat atau non fenolat untuk membentuk kromogen atau gugus kromofor yang dapat dideteksi oleh spektrofotometer pada daerah sinar tampak. Reaksi yang terjadi ditandai dengan adanya perubahan warna larutan dari warna kuning menjadi warna biru kompleks. Prinsip kerja *Folin Ciocalteu* ini adalah reaksi antara senyawa fenol dengan reagen Folin Ciocalteu. Reaksi ini melibatkan oksidasi gugus fenolik dengan campuran asam fosfotungstat (H3PW12O40) dan asam fosfomolibdat (H3PM12O40) dalam reagen menjadi bentuk kuinon (Harborne, 1987)

****Reaksi yang terjadi adalah reaksi reduksi-oksidasi. Senyawa fenolik mereduksi fosfomolibdat - fosfotungstat dalam *Folin-Ciocalteu* membentuk molybdenum yang berwarna biru. 11 Adapun reaksi yang terjadi antara senyawa fenol dan reagen Folin-Ciocalteu, yaitu:

**Gambar 2.9** **Reaksi Reagen *Folin-Ciocalteu* dengan Senyawa Fenol (Hardiana *et al*, 2012)**

1. **Spektrofotometri UV-Vis**

Spektrofotometer adalah alat untuk mengukur transmitan atau absorban suatu sampel sebagai fungsi panjang gelombang (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995). Penggunaan spektrofotometer UV-Vis dalam analisis farmasi adalah untuk analisis kualitatif, walaupun terbatas penggunaannya, serta analisis kuantitatif. Kedua analisis ini memanfaatkan proses penyerapan sinar UV-vis oleh bagian molekul tertentu, seperti kromofor dan auksokrom. Untuk analisis kualitatif, parameter spectrum UV-vis yang digunakan adalah panjang gelombang maksimal dan nilai absorptivitasnya. Sementara untuk analisi kuantitatif, parameter yang bermanfaat adalah nilai serapan atau absorbansinya (Gandjar & Rohman, 2015).

Pada spektrofotometri UV-Vis ada beberapa istilah yang digunakan terkait dengan molekul, yaitu kromofor, auksokrom, efek batokromik atau pergeseran merah, efek hipokromik atau pergeseran biru, hipsokromik, dan hipokromik. Kromofor adalah molekul atau bagian molekul yang mengabsorbsi sinar dengan kuat di daerah UV-Vis, misalnya heksana, aseton, asetilen, benzena, karbonil, karbondioksida, karbonmonooksida, gas nitrogen. Auksokrom adalah gugus fungsi yang mengandung pasangan elektron bebas berikatan kovalen tunggal, yang terikat pada kromofor yang mengintensifkan absorbsi sinar UV-Vis pada kromofor tersebut, baik panjang gelombang maupun intensitasnya, misalnya gugus hidroksi, amina, halida, alkoksi (Suhartati, 2017).

Spektrofotometer UV-VIS adalah pengukuran serapan cahaya di daerah ultraviolet (200-350nm) dan sinar tampak (350-800nm) oleh suatu 17 senyawa. Serapan cahaya UV atau VIS (cahaya tampak) mengakibatkan transisi elektronik, yaitu promosi elektron dari orbital keadan dasar yang berenergi rendah ke orbital keadaan tereksitasi berenergi lebih rendah. Prinsip kerja spektrofotometer UV-Vis berdasarkan hukum Lambert Beer, bila cahaya monokromatis melalui suatu media, maka sebagian cahaya diserap, sebagian dipantulkan, dan sebagian lagi dipancarkan.

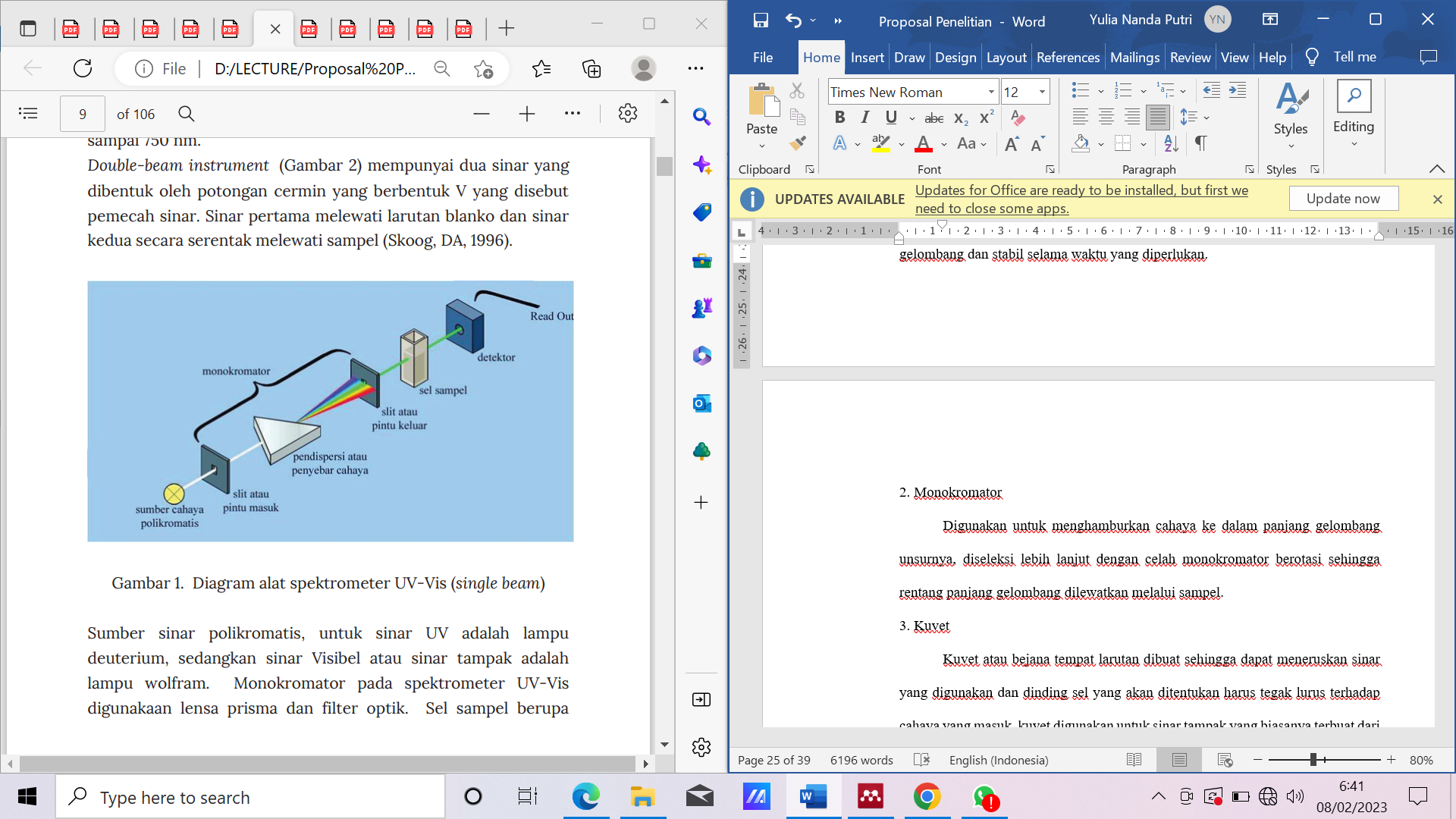
**Tabel 2.2. Hubungan antara warna dengan panjang gelombang sinar tampak**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Panjang Gelombang | Warna yang Diserap | Warna yang Diamati/Warna Komplementer |
| 400-435 nm | Ungu (Lembayung) | Hijau Kekuningan |
| 450-480 nm | Biru | Kuning |
| 480-490 nm | Biru Kehijauan | Oranye |
| 490-500 nm | Hijau Kebiruan | Merah |
| 500-560 nm | Hijau Kebiruan | Merah Anggur |
| 560-580 nm | Hijau Kekuningan | Ungu (Lembayung) |
| 580-595 nm | Kuning | Biru |
| 595-610 nm | Oranye | Biru Kekuningan |
| 610-750 nm | Merah | Hijau Kebiruan |

(Sumber: Gandjar and Rohman, 2007)

1. **Instrumentasi Spektrofotometer UV-Vis**

Pada umumnya terdapat dua tipe instrumen spektrofotometer, yaitu single-beam dan double-beam. Single-beam instrumen dapat digunakan untuk kuantitatif dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang tunggal. Single-beam instrument mempunyai beberapa keuntungan yaitu sederhana, harganya murah, dan mengurangi biaya yang ada merupakan keuntungan yang nyata. Beberapa instrumen menghasilkan single-beam instrument untuk pengukuran sinar ultra violet dan sinar tampak. Panjang gelombang paling rendah adalah 190 sampai 210 nm dan paling tinggi adalah 800 sampai 1000 nm. Double-beam dibuat untuk digunakan pada panjang gelombang 190 sampai 750 nm (Suhartati, 2017).



**Gambar 2.10** **Diagram Alat Spektrofotometer UV-Vis (Single bean) (Suhartati, 2017)**

1. Sumber Cahaya

Untuk mendapatkan pengukuran absorban yang cocok, sumber cahaya hendaknya menghasilkan sinar dengan kekuatan kontinu dan merata pada panjang gelombang dan stabil selama waktu yang diperlukan. Lampu deuterium digunakan untuk daerah UV pada panjang gelombang dari 190-350 nm, sementara lampu halogen kuarsa atau lampu tungsten digunakan untuk daerah visible pada panjang gelombang antara 350-900 nm.

2. Monokromator

Digunakan untuk menghamburkan cahaya ke dalam panjang gelombang unsurnya, diseleksi lebih lanjut dengan celah monokromator berotasi sehingga rentang panjang gelombang dilewatkan melalui sampel sebagai scan instrumen melewati spektrum.

3. Kuvet

Kuvet atau bejana tempat larutan dibuat sehingga dapat meneruskan sinar yang digunakan dan dinding sel yang akan ditentukan harus tegak lurus terhadap cahaya yang masuk, kuvet digunakan untuk sinar tampak yang biasanya terbuat dari kaca atau plastik.

4. Detektor

Detektor yaitu suatu alat yang dapat merubah energi sinar menjadi listrik dengan menyerap energi foton sinar yang jatuh dirubah menjadi besaran yang dapat diukur.

5. Alat Baca (Rekorder)

Rekorder adalah suatu alat untuk membaca isyarat dari detektor. Untuk menganalisa kimia secara spektrofotometri pengaruh berkurangnya intensitas sinar yang disebabkan oleh pemantulan pada dinding kuvet dapat dihilangkan dengan pemakaian sel pembanding yang disebut blanko (Gandjar and Rohman, 2007).

1. **Hukum Lambert-Beer**

Hukum Lambert-Beer (Beer’s law) adalah hubungan linearitas antara absorban dengan konsentrasi larutan analit (Gandjar & Rohman, 2015), yaitu:

A = (Io / It) = abc

Keterangan: Io : Intensitas sinar datang

It : Intensitas sinar yang diteruskan

a : Absorptivitas

b : Panjang sel/kuvet

c : Konsentrasi (g/L)

A : Absorban