

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tumbuhan Pucuk Merah



Gambar 1. Tanaman pucuk merah. (Dokumentasi pribadi)

Pucuk merah merupakan tanaman hias yang banyak dijumpai di tepi-tepi jalan perkotaan maupun perkampungan. Ciri khas dari tanaman pucuk merah adalah daun muda yang berwarna jingga kemerahan hingga coklat lalu berubah menjadi daun tua yang berwarna hijau. Ciri lain dari daun pucuk merah adalah munculnya aroma khas saat diremas yang berasal dari kandungan minyak atsiri (Utami, 2013).

1. Sistematika Tumbuhan

Berdasarkan Van Steenis (2006), tanaman pucuk merah mempunyai kedudukan dalam taksonomi sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Devisi	: Tracheophyta
Class	: Magnoliopsida
Ordo	: Myrtales
Family	: Myrtaceae
Genus	: Syzygium
Spesies	: <i>Syzygium myrtifolium</i> Walp.
Sinonim	: <i>Eugenia myrtifolium</i>

2. Nama Lain

Tanaman pucuk merah mempunyai sebutan yang berbeda, seperti pokok kelat paya (Malaysia), ubah laut (Malaysia Timur), *chinese red-wood* (Chinese), *wild cinnamon*, *red lip*, *australia brush cherry*, dan kelat oil (Haryati, 2015).

3. Morfologi Tanaman

Syzygium myrtifolium Walp. adalah semak cemara dari keluarga *Myrtaceae*. Pertumbuhannya cepat, mudah beradaptasi dengan iklim tropis dan dapat tumbuh menjadi pohon dengan tinggi 2-3 m. Buahnya seperti buah *black cherry*. *Syzygium myrtifolium* Walp. memiliki 2 varietas, pertama memiliki daun kuning dan bunga berwarna putih-krem, dan yang kedua memiliki berbagai daun dan bunga berwarna merah (Aisha *et al.*, 2013). Pada saat dipetik, daunnya menghasilkan aroma yang khas seperti aroma kayu manis (Memon *et al.*, 2014). Daun pucuk merah jika dilihat dengan seksama merupakan daun tunggal yang berbentuk lancip, berhadapan, serta berwarna merah hingga coklat saat muda dan berwarna hijau ketika tua. Daun pucuk merah mempunyai panjang ± 6 cm dan

lebar \pm 2 cm dengan pertulangan daunnya menyirip, mengkilap pada bagian atas dan tumbuh secara berhadapan (Utami, 2013).

4. Ekologi dan Penyebaran

Tanaman pucuk merah merupakan tanaman sejenis perdu yang mempunyai keunikan yaitu terdapat lebih dari satu corak warna dalam setiap pohonnya. Tanaman pucuk merah sebagai tanaman hias dapat ditemukan di sepanjang jalan perkotaan maupun perkampungan baik di dataran tinggi maupun rendah (Ningsih, 2017). Pucuk merah dapat berkembangbiak secara generatif maupun vegetatif. Perkembangbiakan secara generatif terjadi dengan menggunakan biji, sedangkan perkembang biakan vegetatif dilakukan dengan stek batang (Adinugraha *et al.*, 2007).

5. Kandungan Kimia dan Kegunaan

Senyawa metabolit yang terkandung dalam genus *Syzygium* di antara lain flavonoid (Samy *et al.*, 2014), terpenoid (Abdalrahim *et al.*, 2012), kalkon (Memon *et al.*, 2014), ligan (Mir *et al.*, 2009), terpenoid pentasiklik alam yang memiliki aktivitas antiinflamasi (Muruganandan, 2001), antihipertensi (Arai *et al.*, 2000), diabetes (Stenely *et al.*, 1998), alergi (Kim *et al.*, 1998) dan antibakteri (Djipa *et al.*, 2000). Penelitian terdahulu menyatakan bahwa daun hijau pucuk merah kaya akan fenol, flavonoid, dan batulinic acid yang memiliki aktivitas antikanker kolon dengan cara menghambat angiogenesis tumor pada tikus (Aisha *et al.*, 2013). Senyawa flavonoid pada daun hijau tanaman pucuk merah yang berupa dimethyl cardamonin atau dikenal dengan sebutan DMC yang memiliki

aktivitas sebagai hepatoprotektor, sitoprotektif, antiinflamasi, antiviral, antihiperlipidemik, dan efek antiapoptosis (Memon, 2014).

B. Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai seperti air, alkohol, dan campuran alkohol air. Metode ekstraksi menurut Farmakope Herbal Indonesia (2013) ada beberapa cara, yaitu:

1. Cara Dingin

Maserasi adalah suatu cara penyarian simplisia dengan cara merendam simplisia dalam pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur kamar. Bahan yang digunakan pada proses ekstraksi biasanya ditempatkan dalam bejana bermulut lebar kemudian ditambahkan pelarut dan dikocok berulang-ulang selama 2-14 hari. Keuntungan menggunakan metode maserasi adalah dapat diaplikasikan dalam sampel dengan jumlah sedikit, proses mudah dilakukan dan alat yang digunakan sederhana. Kerugian metode maserasi yaitu membutuhkan waktu lama dan penyarian kurang efektif.

Metode maserasi dapat dimodifikasi menjadi metode remaserasi, yaitu cairan penyari dibagi menjadi dua kemudian seluruh serbuk simplisia dimaserasi dengan larutan penyari pertama, lalu serbuk diperas dan penyari pertama disimpan selanjutnya dilakukan maserasi kembali dengan cairan penyari yang kedua.

2. Cara Panas

2.1. Sokletasi adalah ekstraksi lanjutan dengan menggunakan alat soklet, pelarut akan terkondensasi dari labu menuju ke pendingin, kemudian jatuh membasahi sampel dan mengisi bagian tengah alat soklet. Tabung sifon juga terisi dengan larutan ekstraksi dan ketika mencapai bagian atas tabung sifon, larutan tersebut akan kembali ke dalam labu.

2.2. Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya dalam jangka waktu tertentu, pelarut akan terkondensasi menuju pendingin dan kembali ke labu.

2.3. Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur kamar, umumnya dilakukan pada suhu 40-60 °C.

2.4. Infundasi adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur 90°C selama 15 menit.

2.5. Dekoktasi adalah ekstraksi pada suhu 90°C menggunakan pelarut air 30 menit.

C. Fenolik Total

1. Pengertian

Senyawa fenolik adalah senyawa yang memiliki satu atau lebih gugus hidroksil yang menempel pada cincin aromatik. Senyawa fenolik terbentuk dari jalur metabolisme asam sikimat dan fenil propanoid. Senyawa fenolik dari tanaman mempunyai beberapa efek, yaitu antioksidan, antiinflamasi,

antiproliferasi, antimutagenik, antimikrobia, antikarsinogenik, dan pencegahan terhadap penyakit jantung (Ghosh dan Konishi, 2009).

Mekanisme senyawa fenolik sebagai antioksidan dijelaskan oleh Janeiro dan Brett (2004) yaitu melalui kemampuan dari gugus fenol untuk mengikat radikal bebas dengan memberikan atom hidrogennya melalui proses transfer elektron, sehingga fenol berubah menjadi radikal fenoksil. Radikal fenoksil yang terbentuk sebagai hasil reaksi fenol dengan radikal bebas kemudian akan menstabilkan diri melalui efek resonansi. Karena alasan ini maka derivat dari fenol merupakan donor hidrogen yang baik yang dapat menghambat reaksi yang terjadi oleh senyawa radikal. Senyawa fenol disebut juga sebagai inhibitor radikal (Togo, 2004).

2. Asam galat sebagai fenolik

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 dkk., 2003). Asam galat sering digunakan dalam banyak penelitian terkait penetapan kandungan fenolik total sebagai ekuivalen terhadap kandungan fenolik total bahan tumbuhan yang diuji (Javanmardi dkk., 2003). Alasan penggunaan asam galat sebagai standar dalam penetapan kandungan fenolik total yaitu karena asam galat terbentuk dari 3-dehydroshikimic acid pada jalur sikimat yang melalui serangkaian tahapan reaksi kimia hingga diperoleh asam amino aromatik yaitu L-phenylalanine, L-tyrosine yang merupakan bentuk dari struktur dasar yang ditemukan pada asam sinamat, kumarin, lignan dan flavonoids

(Dewick, 2001). Asam galat termasuk dalam golongan antioksidan alami yang sering digunakan sebagai pengawet makanan (Lopez dkk., 2003).

3. Kegunaan

Menurut Surh (2003), senyawa fenolik mampu melawan efek bahaya radikal bebas sehingga menurunkan resiko penyakit kanker, jantung koroner, stroke, arterosklerosis, osteoporosis, inflamasi, dan penyakit neurodegeneratif lain. Senyawa fenolik diketahui juga mempunyai peran multifungsional seperti berperan sebagai reduktan (penangkal radikal), pengelat logam, dan kuenser oksigen singlet.

4. Analisis kualitatif

Kandungan fenolik total dapat diidentifikasi dengan reagen Folin-ciocalteu. Prinsip metode Folin-ciocalteu adalah oksidasi gugus-hidroksil. Pereaksi Folin-ciocalteu akan mengoksidasi fenolat serta mereduksi asam heteropoli menjadi kompleks molibdeum-tungsten (Mo-W). Selama reaksi berlangsung, gugus fenolik-hidroksil akan bereaksi dengan reagen Folin-ciocalteu membentuk fosfotungstat-fosfomolibdat berwarna biru (Jasson, 2005).

5. Analisis kuantitatif

Kandungan fenolik total dalam suatu sampel dapat diukur secara kolorimetri dengan metode Folin-ciocalteu dan dinyatakan dengan massa ekuivalen asam galat (Jasson, 2005). Pereaksi Folin-ciocalteu merupakan suatu larutan kompleks berwarna biru yang terbentuk dari asam fosfomolibdat dan asam heteropoli fosfotungstat. Pereaksi ini terbuat dari air, natrium tungstat, natrium

molibdat, asam fosfat, asam klorida, litium, sulfat, dan bromin (Nurhayati *et al.*, 2012).

Warna biru yang dihasilkan dari reaksi ini akan semakin pekat setara dengan konsentrasi senyawa fenolik yang terdapat pada larutan uji dan memiliki serapan kuat pada panjang gelombang 760 nm (Blainski *et al.*, 2013).

Metode Folin-ciocalteu merupakan metode yang sederhana, sensitif dan teliti. Metode ini terjadi dalam suasana basa sehingga dalam penentuan kadar fenolik dengan pereaksi Folin-ciocalteu digunakan natrium karbonat yang bertujuan untuk membentuk suasana basa (Prior *et al.*, 2005).

D. Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis merupakan salah satu teknik analisis fisika-kimia yang mengamati tentang atom atau molekul dengan radiasi elektromagnetik pada panjang gelombang 380-780 nm. Sedangkan sinar ultraviolet mempunyai panjang gelombang antara 200-400 nm (Gandjar dan Rohman, 2007). Instrumentasi spektrofotometer meliputi sumber tenaga radiasi yang stabil, sistem yang terdiri dari lensa-lensa, cermin, monokromator untuk mengubah radiasi, tempat cuplikan yang transparan, dan detektor radiasi yang dihubungkan dengan pencatat (Sastrohamidjojo, 2001).

Serapan maksimum suatu senyawa kimia dipengaruhi oleh adanya kromofor dan gugus aoksokrom. Interaksi antara senyawa yang memiliki gugus kromofor dengan radiasi elektromagnetik pada daerah UV dan visibel akan menghasilkan transisi elektromagnetik dan spektra serapan elektromagnetik. Tiga

hal yang mungkin terjadi ketika terjadi interaksi molekul dengan radiasi elektromagnetik adalah hamburan, absorpsi, dan emisi (Sastrohamidjojo, 2001).

Kromofor merupakan semua gugus atau gugusan atom berupa ikatan rangkap konjugasi (seperti benzena) yang mengabsorpsi radiasi UV-Vis, sedangkan auksokrom merupakan suatu gugus fungsional yang memiliki elektron bebas seperti $-OH$, $-NH_2$ dan OCH_3 yang memberikan transisi $n-\alpha^*$ (Sastrohamidjojo, 2001).

Menurut Sastrohamidjojo (2001), terikatnya gugus auksokrom pada gugus kromofor akan meningkatkan absorbansinya dan menggeser puncak serapan ke panjang gelombang yang lebih panjang. Peningkatan intensitas absorpsi disebut efek hiperkromik sedangkan penurunan intensitas absorpsi disebut efek hipokromik. Pergeseran panjang gelombang dibedakan menjadi pergeseran batokromik, yaitu pergeseran serapan ke arah panjang gelombang yang lebih panjang yang disebabkan karena substitusi atau pengaruh pelarut, dan pergeseran hipsokromik, yaitu pergeseran serapan ke arah panjang gelombang yang lebih pendek yang disebabkan karena substitusi atau pengaruh pelarut (pergeseran biru). Absorpsi cahaya UV-visibel mengakibatkan terjadinya transisi elektronik, yaitu promosi-promosi dari orbital keadaan dasar yang berenergi rendah ke orbital keadaan tereksitasi yang berenergi lebih tinggi (Fessenden dan Fessenden, 1995).

E. Validasi Metode

Validasi metode menurut *United States Pharmacopeia* (USP) bertujuan untuk menjamin bahwa metode analisis akurat, spesifik, reproduibel, dan tahan pada kisaran analit yang akan dianalisis. Metode analisis harus divalidasi untuk

melakukan verifikasi bahwa parameter-parameter kinerja cukup mampu untuk mengatasi problem analisis, karenanya suatu metode harus divalidasi ketika :

1. Metode baru dikembangkan untuk mengatasi problem analisis tertentu.
2. Metode yang sudah baku direvisi untuk menyesuaikan perkembangan atau karena munculnya suatu problem yang mengarahkan bahwa metode baku tersebut harus direvisi.
3. Penjaminan mutu yang mengindikasikan bahwa metode baku telah berubah seiring dengan berjalannya waktu.
4. Metode baku digunakan dilaboratorium yang berbeda atau dikerjakan.
5. Untuk mendemonstrasikan kesetaraan antar 2 metode, seperti antara metode baru dan metode baku.

Karakteristik validasi metode yang sering dilakukan pada penelitian adalah sebagai berikut :

1. Ketepatan (akurasi)

Akurasi merupakan ketelitian metode analisis atau kedekatan antara nilai terukur dengan nilai yang diterima baik nilai konvensi, nilai sebenarnya atau nilai rujukan. Akurasi diukur sebagai banyaknya analit yang diperoleh kembali pada suatu pengukuran dengan melakukan spiking pada suatu sampel. Untuk pengujian senyawa obat, akurasi diperoleh dengan membandingkan hasil pengukuran dengan bahan rujukan standar (Standar reference material, SRM). Untuk mendokumentasikan akurasi, ICH merekomendasikan pengumpulan data dari 9 kali penetapan kadar dengan 3 konsentrasi yang berbeda (misal 3 konsentrasi dengan 3 kali replikasi).

2. Presisi

Presisi merupakan ukuran keterulangan metode analisis dan biasanya diekspresikan sebagai simpangan baku relatif dari sejumlah sampel yang berbeda signifikan secara statistik. Sesuai dengan ICH, presisi harus dilakukan pada 3 tingkatan yang berbeda yaitu:

2.1 Keterulangan, yaitu ketepatan (*precision*) pada kondisi percobaan yang sama (berulang) baik orangnya, peralatannya, tempatnya, maupun waktunya.

2.2 Presisi antara yaitu ketepatan (*precision*) pada kondisi percobaan yang berbeda, baik orangnya, peralatannya, tempatnya, maupun waktunya.

2.3 Ketertiruan merujuk pada hasil-hasil dari laboratorium yang lain.

Dokumentasi presisi seharusnya mencakup: simpangan baku, simpangan baku relatif (RSD), atau koefisien variasi (CV), dan kisaran kepercayaan. Pengujian presisi pada saat awal validasi metode seringkali hanya menggunakan 2 parameter yaitu: keterulangan dan presisi antara. Reprodusibilitas biasanya dilakukan ketika akan melakukan uji banding antar laboratorium (Rohman, 2007).

3. Batas kuantifikasi (*limit of quantification*)

Batas kuantifikasi didefinisikan sebagai konsentrasi analit terendah dalam sampel yang dapat ditentukan dengan presisi dan akurasi yang dapat diterima pada kondisi operasional metode yang digunakan. Sebagaimana LOD, LOQ juga diekspresikan sebagai konsentrasi (dengan akurasi dan presisi juga dilaporkan). Kadang-kadang rasio *signal tnoise* 10:1 digunakan untuk menentukan LOQ. Perhitungan LOQ dengan rasio *signal tnoise* 10:1 merupakan aturan umum, meskipun demikian perlu diingat bahwa LOQ merupakan suatu kompromi antara

konsentrasi dengan presisi dan akurasi yang dipersyaratkan. Jadi, jika konsentrasi LOQ menurun maka presisi juga menurun. Jika presisi tinggi dipersyaratkan, maka konsentrasi LOQ yang lebih tinggi harus dilaporkan. *International Conference Harmonisation* mengenalkan metode rasio signal tunoise ini, meskipun demikian sebagai mana dalam perhitungan LOD, ICH juga menggunakan 2 metode untuk menentukan LOQ yaitu: (1 metode non instrumental visual) dan (2 metode perhitungan). Metode perhitungan didasarkan pada standar defiasi respon (SD) dan slope (S) kurva baku sesuai dengan rumus: $LOQ = 10 (SD/S)$ standr defiasi respon dapat ditentukan berdasarkan standar deviasi blanko pada standar defiasi residual garis regresi linier atau dengan standar deviasi intersep-y pada garis regresi.

4. Linieritas

Linieritas merupakan kemampuan suatu metode untuk memperoleh hasil-hasil uji yang secara langsung proporsional dengan konsentrasi analit pada kisaran yang diberikan. Linieritas suatu metode merupakan ukuran seberapa baik kurva kalibrasi yang menghubungkan antara respon (Y) dengan konsentrasi (X). Linieritas dapat diukur dengan melakukan pengukuran tunggal pada konsentrasi yang berbeda-beda. Data yang diperoleh selanjutnya diproses dengan metode kuadrat terkecil, untuk selanjutnya dapat ditentukan nilai kemiringan (slope), intersep, dan koefisien korelasinya (Rohman, 2007).

F. Landasan Teori

Pucuk merah merupakan tanaman hias yang banyak dijumpai di tepi-tepi jalan perkotaan maupun perkampungan. Ciri khas dari tanaman pucuk merah adalah daun yang berwarna jingga kemerahan. Ciri lain dari daun pucuk merah adalah munculnya aroma khas saat diremas yang berasal dari kandungan minyak atsiri.

Beberapa penelitian telah menyimpulkan bahwa tanaman pucuk merah mengandung senyawa fenolik, namun penelitian mengenai daun muda dan daun tua pucuk merah belum dilakukan. Menurut beberapa penelitian terdahulu, terdapat pernyataan bahwa daun muda lebih banyak mengandung senyawa fenolik, akan tetapi di beberapa penelitian menunjukkan bahwa daun tua secara umum mempunyai senyawa fenolik lebih tinggi, karena hasil metabolisme sekunder lebih banyak dihasilkan pada bagian tumbuhan yang berumur tua (Naovi *et al.*, 2014).

Senyawa fenolik merupakan salah satu senyawa yang dapat menghasilkan antioksidan alami. Antioksidan mampu menghambat proses reaksi oksidasi yang menghasilkan radikal bebas dan memicu kerusakan sel tubuh. Radikal bebas dalam tubuh dapat menyebabkan timbulnya berbagai penyakit seperti kanker, jantung, katarak, penuaan dini serta penyakit degeneratif lainnya (Nasution *et al.*, 2014). Mengingat pentingnya antioksidan dalam tubuh, maka marak dilakukan riset mengenai antioksidan yang didapatkan secara alami.

Penentuan kadar fenolik total dapat dilakukan dengan metode Folin-ciocalteu. Pereaksi Folin-ciocalteu merupakan suatu larutan kompleks yang

terbentuk dari asam fosfomolibdat dan asam heteropoli fosfotungstat. Folin-ciocalteu terbentuk dari air, natrium tungstat, natrium molibdat, asam fosfat, asam klorida, litium, sulfat dan bromin (Jasson, 2005).

Fenolik total yang terkandung dalam sampel dapat diukur secara kolorimetri dengan metode Folin-ciocalteu menggunakan instrumentasi spektrofotometer UV-Vis. Fenolik akan bereaksi dengan reagen Folin-ciocalteu membentuk kompleks fosfotungstat-fosfomolibdat berwarna biru. Warna biru yang dihasilkan setara dengan konsentrasi senyawa fenolik pada sampel dengan serapan kuat pada panjang gelombang 760 nm secara Spektrofotometri UV-Vis. Spektrofotometri UV-Vis merupakan salah satu teknik analisis fisika-kimia dengan menggunakan radiasi gelombang elektromagnetik pada panjang gelombang 200-780 nm. Panjang gelombang yang digunakan adalah serapan maksimum suatu kimia yang dipengaruhi oleh adanya gugus kromofor (Sastrohamidjojo, 2001).

G. Hipotesis

Parameter yang diperoleh dari penelitian ini adalah :

1. Kadar fenolik total dari daun muda dan daun tua pucuk merah (*Syzigium myrtifolium* Walp.)
2. Perbedaan kadar fenolik total antara daun muda dan daun tua pucuk merah.