

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Alpukat (*Persea americana* Mill)

1. Klasifikasi tanaman

Klasifikasi tanaman alpukat menurut Felistiani, (2017):

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Subkelas	: Magnoliidae
Ordo	: Laurales
Familia	: Lauraceae
Genus	: Persea
Spesies	: <i>Persea americana</i> Mill



Gambar 1 Tanaman alpukat (Andi, 2013).

2. Morfologi

Daun alpukat merupakan salah satu bagian yang bisa digunakan dari tanaman alpukat. Tanaman alpukat memiliki pohon dengan ketinggian 3-10 m. Bunga berwarna kehijauan hingga kuning dengan lebar 5-10 mm, Buah berbentuk seperti buah pir dengan panjang berkisar 7-20 cm dan berat berkisar 100-1000 gram (Rindi, 2020). Menurut Jannah (2016) tanaman alpukat mempunyai daun tunggal dengan tangkai sekitar 1 sampai 5,5 cm letak daun rapat di ujung ranting. Bentuk daun dari jorong hingga bundar telur memanjang. Ukuran panjangnya berkisar antara 10 sampai 20 cm dan lebar 3 sampai 10 cm. Daun muda bewarna kemerahan, daun tua bewarna hijau tua serta daun tersebut memiliki rasa yang pahit.

3. Kandungan Pada Daun Alpukat

Daun alpukat mengandung berbagai senyawa fenolik dan flavonoid yang memiliki potensi berperan untuk antioksidan, antara lain: Asam fenolat: *caffeic acid*, *p-coumaric acid*, *chlorogenic acid*, *ferulic acid*, dan *sinapic acid*—dengan struktur C₆–C₃, mengandung cincin aromatik dan gugus –OH, efektif menetralkan radikal bebas (Kupnik *et al.*, 2023). Flavonoid utama: *kuersetin*, *rutin*, *myricetin* dan turunan kuersetin (diglukosida, ramnosida).

3.1 Kuersetin. Golongan senyawa flavonol dengan struktur dasar 3,3',4',5,7-pentahidroksi-2-fenilchromen-4-on. Peran senyawa tersebut dalam aktivitas antioksidan adalah gugus hidroksil pada posisi 3 dan 3' dapat menyumbangkan atom hidrogen, menetralkan radikal seperti superoksida dan DPPH, meningkatkan enzim endogen (SOD, katalase, glutathion peroksidase) serta melindungi DNA dari oksidasi (Akaahan *et al.*, 2025).

3.2 Rutin. Golongan senyawa flavonoid glikosida (kuersetin-3-O-rutinosida) dengan struktur kuersetin yang terikat disakarida rutinosa dapat meningkatkan kelarutan dalam air dan stabilitas. Peran senyawa tersebut dalam aktivitas antioksidan adalah sebagai antioksidan kuat dan bersifat antiinflamasi.

3.3 Myricetin. Golongan senyawa flavonol (3,3',4',5,5',7-hexahidroksil). Peran senyawa tersebut dalam aktivitas antioksidan adalah aktivitas antioksidan kuat, menekan stres oksidatif lewat efek hepatoprotektif dan pencegahan kerusakan DNA.

4. Kegunaan

Tanaman alpukat dikenal memiliki berbagai khasiat sebagai obat tradisional dan hampir semua bagiannya dapat dimanfaatkan untuk pengobatan. Salah satu bagian yang sering digunakan adalah daunnya, yang berfungsi sebagai obat alami. Daun alpukat dapat dimanfaatkan untuk pengobatan seperti sariawan, batu ginjal, hipertensi, wajah kering, nyeri gigi, pembengkakan karena peradangan dan kencing manis (Dewa Gede *et al.*, 2009).

B. Tanaman rosella (*Hibiscus sabdariffa*)

1. Klasifikasi tanaman

Menurut Mahadevan *et al.*, 2009 klasifikasi tanaman rosella:

Kingdom : Plantae

Subkingdom : Tracheobionta

Division	: Magnoliophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Class	: Magnoliopsida
Subclass	: Dilleniidae
Ordo	: Malvales
Family	: Malvaceae
Genus	: <i>Hibiscus</i> L.
Species	: <i>Hibiscus sabdariffa</i> L



Gambar 2. Tanaman rosella (Dokumentasi pribadi).

2. Morfologi

Tanaman rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) adalah tanaman yang dapat tumbuh hingga 0,5 sampai 3 meter. Tanaman ini mempunyai batang yang bulat, tumbuh tegak, berkayu dan memiliki warna merah. Daunnya tunggal, berbentuk bulat telur, pertulangan menjari, ujung tumpul, tepi bergerigi, dan pangkal berlekuk. Panjang daun 6 – 15 cm dan lebarnya 5 – 8 cm, tangkai daun bulat berwarna hijau, dengan panjang 4 sampai 7 cm (Maryani dan Kristiana, L., 2008). Bunga rosela merupakan bunga tunggal, artinya pada tiap tangkai hanya ada satu bunga. Kelopak bunga sering dimanfaatkan untuk makanan dan minuman (Widyanto dan Nelistya, 2008). Mahkota bunga memiliki bentuk corong dan terdiri dari 5 helai, memiliki panjang 3 sampai 5 cm. Bijinya berwarna putih saat masih muda dan berubah menjadi warna abu – abu ketika sudah tua (Mardiah *et al.*, 2009).

3. Kandungan Kimia

Kelopak bunga rosela memiliki kandungan penting didalamnya seperti berikut:

3.1 Antosianin. Golongan senyawa flavonoid (pigmen alami) dengan struktur Aglikon flavylum ($C_6-C_3-C_6$) dengan gugus hidroksil dan terikat glikosida contoh utama seperti cyanidin-3-sambubiosida,

delphinidin-3-sambubiosida, serta cyanidin-3-glukosida. Peran senyawa tersebut dalam aktivitas antioksidan adalah menghambat enzim pembentuk radikal (Tena, N *et al.*, 2020).

3.2 Asam Fenolat. Contohnya *protocatechuic acid*, *klorogenat*, *neoklorogenat*, *kafeil-shikimat* dengan struktur $C_6 - C_1 - C_6$ atau variasi ($C_6 - C_3$) dengan gugus $-OH$ dan gugus asam $-COOH$.

4. Kegunaan

Rosella dikenal sebagai salah satu obat tradisional untuk menurunkan tekanan darah. Kandungan flavonoid yang terdapat dalam kelopak bunganya berperan dalam mengurangi kekentalan darah, sehingga kelopak bunga rosella. beban kerja jantung akan menurun dan tekanan darah ikut turun (Permata, 2010). Kelopak bunga rosela juga mengandung gosipetin, antosianin, dan glukosida hibisci sebagai senyawa aktif utama. Pigmen bewarna merah di bunga rosela berasal dari kandungan antosianin yang berfungsi untuk zat antioksidan alami (Djaeni, 2017).

C. Metode Pemisahan Senyawa

1. Ekstraksi

Ekstraksi adalah pemisahan atau menarik kandungan kimia yang larut terpisah dari suatu bahan yang tidak larut dengan pelarut cair tertentu. Ekstrak merupakan sediaan pekat yang diperoleh dari ekstraksi zat aktif yang ada dalam simplisia hewani ataupun nabati menggunakan pelarut yang cocok, setelah selesai pelarut diuapkan seluruhnya atau hampir seluruhnya kemudian sisa hasil ekstraksi diolah sampai memenuhi standar yang telah ditetapkan (Prayudo *et al.*, 2015).

2. Maserasi

Maserasi adalah metode ekstraksi dengan merendam bagian tanaman yang sudah dilakukan penggilingan kasar dalam pelarut didalam tabung tertutup pada suhu ruangan selama kurang lebih 3 hari, dan selama proses perendaman larutan diaduk terus-menerus agar semua bagian telarut kedalam pelarut. Campuran disaring dan ampasnya dipress untuk mendapatkan ekstrak cair. Ekstrak cair kemudian dijernihkan melalui penyaringan atau dekantasi selama waktu tertentu. Kelebihan dari metode ini adalah tidak memerlukan tanaman dalam bentuk serbuk halus, prosesnya sederhana tanpa membutuhkan keahlian khusus, dan penggunaan pelarut lebih hemat dibandingkan dengan metode lain.

Maserasi ini sangat cocok digunakan untuk mengekstrak senyawa yang sensitif terhadap pemanasan (Julianto, 2019).

3. Pelarut

Pelarut yang sering diterapkan pada metode maserasi yaitu etanol 70% (Ncube *et al.*, 2008). Metabolit sekunder pada simplisia padat diekstrak dengan baik jika menggunakan pelarut yang tepat (Depkes RI, 2008). Pemilihan pelarut sangat penting karena dapat mempengaruhi hasil ekstraksi. Etanol 70% memiliki kelebihan karena mampu mengekstrak sebagian besar matabolit sekunder dari simplisia. Etanol juga membantu pelarut menembus membran sel sehingga zat-zat di dalam sel tanaman dapat diambil. Etanol memiliki sifat polaritas lebih rendah dibandingkan dengan methanol, tetapi methanol bersifat toksik sehingga kurang ideal untuk dipakai (Tiwari *et al.*, 2011). Etanol 70% dipilih dalam penelitian ini karena kemampuannya untuk mendeteksi senyawa flavonoid dengan konsentrasi yang lebih tinggi dibandingkan dengan etanol murni, karena polaritasnya yang lebih sesuai (Tiwari *et al.*, 2011).

D. Radikal Bebas

Radikal bebas yaitu senyawa reaktif berasal dari oksigen serta mempunyai elektron yang tidak berpasangan. Besarnya radikal bebas dalam tubuh seseorang bisa menimbulkan berbagai penyakit degeneratif. Untuk mengatasi hal ini, tubuh membutuhkan zat penting yaitu antioksidan, yang berguna sebagai perlindungan tubuh dari kerusakan yang dikarenakan radikal bebas serta mengurangi efek negatif yang ditimbulkannya (Winarsi, 2007).

Sumber radikal bebas secara umum dibagi menjadi dua jenis, yakni asalnya dari luar dan dalam tubuh. Radikal bebas yang asalnya dari dalam tubuh bisa dibentuk pada proses oksidasi enzimatik, proses autoksida, transfer elektron di mitokrida, fagositosis pada respirasi serta ion logam transisi. Radikal bebas yang asalnya dari luar tubuh, contohnya cahaya ultraviolet. Radikal bebas eksogen asalnya dari aktivitas lingkungan. Berdasarkan Supari (1996), faktor lingkungan yang bisa menyebabkan radikal bebas meliputi paparan radiasi, polusi udara, asap rokok, dari makanan dan minuman tertentu, ozon, serta pestisida. Proses adanya senyawa radikal, baik yang ada dalam maupun luar tubuh terjadi dengan cara inisiasi (membentuk awal radikal bebas), propagasi

(perambatan dan pembentukan radikal baru) serta terminasi (penghentian reaksi dengan mengubah radikal menjadi non radikal).

E. Antioksidan

Antioksidan adalah zat yang berperan penting untuk memelihara kesehatan tubuh karena dapat menangkal radikal bebas yang dihasilkan secara alami di dalam tubuh (Pramitasari, 2010). Antioksidan juga membantu memperlambat reaksi oksidasi pada lipid, mencegah timbulnya kerusakan pada suatu makanan, serta membantu memperpanjang masa simpan makanan (Pramitasari, 2010).

1. Antioksidan berdasarkan sumbernya

1.1 Antioksidan alami. Antioksidan alami merupakan antioksidan yang didapatkan dari tanaman jenis sayur mayur, umbi-umbian, buah, rempah-rempah serta biji-bijian. Senyawa yang biasanya ada didalam antioksidan alami yakni isoflavon, senyawa flavonoid, polifenol, fenol, serta asam organik.

1.2 Antioksidan buatan atau sintetis. Antioksidan sintetis merupakan antioksidan berasal dari hasil reaksi sintesa reaksi kimia (Trilaksani, 2003). Antioksidan sintetis yang umum serta memiliki izin pada makanan berupa BHA, BHT, serta profil galat (Panagan, 2011).

2. Mekanisme kerja antioksidan

2.1 Antioksidan primer. Antioksidan primer bisa menghambat terbentuknya radikal bebas baru dengan cara memutus reaksi berantai dan diubah menjadi senyawa lebih stabil. Contohnya adalah enzim *superoksida dismutase* (SOD), *glutathion peroksidase* (GHS), dan katalase yang mampu mengubah radikal superoksida menjadi molekul air.

2.2 Antioksidan sekunder. Antioksidan sekunder berfungsi menangkap radikal bebas serta pencegahan amplifikasi senyawa radikal. Misalnya vitamin C, vitamin E, vitamin A, serta berbagai senyawa fitokimia.

2.3 Antioksidan tersier. Antioksidan tersier berfungsi sebagai mekanisme biomolekuler yaitu sebagai perbaikan jaringan dan sel yang hancur diakibatkan oleh radikal bebas

3. Metode uji aktivitas antioksidan

3.1 Metode DPPH (2,2-diphenyl-1-pikrilhidrazil). Bozin *et al* (2008) metode DPPH adalah metode yang biasa dipakai sebagai uji aktivitas antioksidan sebab mempunyai sifat yang stabil berbentuk

radikal bebas dan menjadi metode yang murah, cepat serta sederhana. Pengukuran metode ini dilakukan dengan reduksi dari larutan methanol radikal bebas, warna larutan bisa berkurang karena adanya penghambatan radikal bebas, saat larutan DPPH bertemu dengan senyawa yang bisa menyumbangkan elektron maka DPPH akan tereduksi ditandai adanya perubahan warna ungu jadi warna kuning diukur menggunakan spektrofotometer dan panjang gelombang 517 nm (Prayoga, 2013).

Perhitungan nilai IC₅₀ sebagai berikut:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{(A_0 - A_1)}{A_0} \times 100\%$$

Ket:

% inhibisi = persentase hambat antioksidan

A₀ = absorbansi kontrol

A₁ = absorbansi sampel

Aktivitas tersebut dinyatakan sebagai konsentrasi inhibisi IC₅₀ yang diperoleh (Masrifah dkk., 2017). IC₅₀ (*Inhibition Concentration*) merupakan nilai konsentrasi antioksidan (µg/mL) yang bisa memberikan hambatan 50% aktivitas radikal bebas. Sampel atau senyawa dinyatakan antioksidan begitu kuat apabila skor IC₅₀ kurang dari 50, kuat 50 sampai 100, sedang 100 sampai 150, dan lemah lebih dari 150. Skor IC₅₀ yang mengecil menjelaskan aktivitas antioksidan yang semakin kuat atau tinggi (Badarinath *et al.*, 2010).

3.2 Metode CUPRAC (*cupric ion reducing antioxidant capacity*). Metode yang dapat mengoksidasi tiol jenis antioksidan dengan cukup cepat, reagen CUPRAC memiliki potensi redoks lebih rendah dan dapat mengukur antioksidan hidrofilik dan lipofilik serta elektron radika bebas dan elektron radikal bebas CUPRAC akan berpasangan jika warna dari larutan berwarna biru berubah menjadi kuning cemerlang saat dideteksi pada panjang gelombang 450 nm (Wahyuni, 2015). Efektivitas 50% kapasitas CUPRAC ditentukan dari konsentrasi sampel atau standar dikenal dengan EC₅₀. Suatu antioksidan dikatakan sangat kuat jika nilai IC₅₀ kurang dari 50, apabila kuat 50 sampai 100, dikatakan sedang jika 101 sampai 150, dan dikatakan lemah jika lebih dari 151 (Fidrianny *et al.*, 2015).

3.3 Metode FRAP (*ferric reducing antioxidant power*). Teknik ini dipakai untuk mengidentifikasi antioksidan dengan mereduksi Fe³⁺ berwarna kuning hingga berubah menjadi Fe²⁺ berwarna hijau

kebiruan pada suasana asam serta diukur di panjang gelombang 700 nm (Maesaroh *et al.*, 2018). Semakin pekat warna hijau yang mengindikasikan terbentuknya ion terbentuk Fe^{2+} menyebabkan kenaikan nilai absorbansi (Tahir *et al.*, 2016).

3.4 Metode ABTS. Metode ini bekerja dengan mengukur kemampuan antioksidan yang dengan mendonorkan radikal proton agar stabil menggunakan alat calorimeter, dengan mekanisme kerjanya terjadi secara kuantitatif diukur menggunakan metode ABTS yang dilakukan pada panjang gelombang 734 nm, terlihat adanya perubahan warna larutan dari biru atau hijau menjadi bening atau tidak berwarna (Vifta, Rahayu dan Luhurningtyas, 2019).

F. Spektrofotometri

Spektrofotometri UV-Vis adalah metode yang dipakai dalam mengetahui jumlah cahaya yang diserap suatu sampel pada beragam panjang gelombang di bagian sinar UV serta cahaya terlihat. Alat ini sinar cahaya dipisahkan dan sebagian diarahkan ke wadah transparan berisi larutan atau sampel. Saat radiasi UV-Vis lewat melalui senyawa yang memiliki ikatan rangkap dan sebagian cahaya akan diserap bergantung pada panjang gelombang dan bentuk senyawanya. Proses absorpsi terjadi karena pengurangan energi cahaya yang mendorong elektron dari rendah ke tingkat energi tinggi. Menurut (Ramlah, 2017) Spektrofotometer UV-Vis adalah alat yang terhubung ke komputer dan digabungkan dengan sinar tampak (visible) sehingga penggunaan bisa disesuaikan. Komponen utama spektrofotometer secara umum yang sinar tunggal atau ganda terdiri dari tempat asal cahaya, alat pemilih warna cahaya, wadah untuk sampel serta alat mendeteksi cahaya. Alat ini dapat mengubah sinyal cahaya menjadi data digital yang ditampilkan dikomputer. Penyerapan cahaya dari larutan menurut hukum *Lambert-Beer* adalah:

$$A = \log (I_0 / I_t) = a b c$$

Dimana:

I_0 = intensitas cahaya datang

a = absorbtivitas

b = panjang sel/kuvet

G. Landasan Teori

Radikal bebas yakni atom dan molekul yang memiliki kandungan beberapa elektron yang tidak berpasangan serta reaktif sehingga bisa lebih stabil senyawa tersebut memilih elektron dari molekul lainnya yang mengakibatkan ketidaknormalan molekul lain serta melakukan reaksi berantai yang memberikan kerusakan jaringan. Zat yang bisa memberikan perlindungan tubuh dari dampak buruk radikal bebas adalah antioksidan (Raudhotul *et al.*, 2018). Antioksidan yaitu senyawa penting yang berperan menangkap radikal bebas di tubuh dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang begitu aktif (Pramitasari, 2010). Antioksidan dibedakan menjadi 2 yakni sintetis serta alami. Zat antioksidan lain juga ditemukan dalam makanan (Amin, H.2015).

Aktivitas antioksidan daun alpukat telah dibuktikan oleh Fatmawaty *et al.* (2019) dengan hasil IC_{50} ekstrak daun alpukat yang terlarut dalam air adalah sebesar 29,7 $\mu\text{g/mL}$ dan pada ekstrak daun alpukat fraksi etanol adalah sebesar 35,9 $\mu\text{g/mL}$. Nilai IC_{50} ekstrak daun alpukat fraksi heksan adalah 440.8 $\mu\text{g/mL}$ menyatakan aktivitas antioksidan lemah karena nilai IC_{50} 250-500 $\mu\text{g/mL}$, lebih besar dibandingkan dengan hasil IC_{50} dari ekstrak daun alpukat fraksi etilasetat sebesar 157.3 $\mu\text{g/mL}$ menyatakan aktivitas antioksidan sedang karena nilai IC_{50} 101-250 $\mu\text{g/mL}$. Dalam penelitian yang dilakukan oleh Cicilia *et al.* (2024), ekstrak daun yang didapat melalui pelarut etanol 70% menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} 24,69 ppm.

Aktivitas uji antioksidan bunga rosela rosela telah dilakukan oleh Suzery *et al.*, (2020) dengan pelarut etanol 70 % dengan hasil IC_{50} sebesar 42,81 $\mu\text{g/mL}$. Pada penelitian lain juga telah dilakukan oleh Lestari *et al.*, (2022), dengan pelarut etanol adalah 38,2939 $\mu\text{g/mL}$. Bunga rosella kering mempunyai aktivitas antioksidan dengan % inhibisi 99,05% (Winarti *et al.*, 2015).

Analisis yang akan dilakukan dari ekstrak daun alpukat dan bunga rosela adalah kandungan antioksidan pada ekstrak daun alpukat dan bunga rosela menggunakan metode DPPH karena bersifat stabil dengan metode yang sederhana, cepat, dan murah (Bozin *et al.*, 2008). Nilai IC_{50} yang diperoleh dinyatakan sebagai aktivitas antioksidan (Masrifah *et al.*, 2017).

H. Hipotesis

Berdasarkan uraian diatas, maka dapat disusun suatu hipotesis dari penelitian ini adalah :

Pertama, kombinasi dari ekstrak daun alpukat (*Persea americana* Mill.) dan bunga rosela (*Hibiscus sabdariffa*) memiliki aktivitas antioksidan terhadap 1,1-dyphenil-2-picrylhydrazyl (DPPH).

Kedua, kombinasi dari ekstrak daun alpukat (*Persea americana* Mill.) dan bunga rosela (*Hibiscus sabdariffa*) yang memiliki IC₅₀ terbaik perbandingan 2:1.