

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Buah Salju (*Inga edulis*)

1. Klasifikasi tanaman *Inga edulis*

Klasifikasi ilmiah dari tanaman *Inga edulis* adalah sebagai berikut

Kingdom : *Plantae*

Class : *Dicotyledonae*

Ordo : *Fabales*

Family : *Fabaceace*

Genus : *Inga*

Species : *Inga edulis*



Sumber: (Mariuci, 2021)

Gambar 1. Tanaman Buah Salju (*Inga edulis*)

Inga edulis atau *ice cream bean* adalah salah satu pohon paling keras yang tumbuh di Amerika. Tumbuh di iklim subtropis yang mengalami curah hujan tinggi dan intensitas cahaya tinggi. Dapat tumbuh di daerah dengan ketinggian hingga 2200 mdpl yang tidak terdapat embun beku (Lim, 2012). Meski tumbuh

seperti pohon, biji es krim sebenarnya adalah kacang-kacangan. Ia dapat tumbuh setinggi 60 kaki atau lebih, dan setelah empat tahun di dalam tanah ia mulai mengeluarkan polong sepanjang satu kaki yang dikemas dengan biji seukuran kacang yang dibungkus dengan penutup kapas yang dapat dimakan, manis. Tanaman kacang es krim berasal dari wilayah besar yang terbentang dari Puerto Rico ke Meksiko hingga Amazon (Spurrier, 2012).

Inga edulis dibudidayakan secara luas, sampai-sampai daerah asal spesies yang tepat tidak pasti. Namun, di Amerika Selatan spesies ini digunakan sebagai tanaman buah dan naungan untuk tanaman lain yang penting secara ekonomi, seperti kopi dan kakao. Di Indonesia tepatnya di Bedugul, jenis tanaman ini dikenal secara lokal sebagai buah es krim atau buah salju karena sarcotestanya yang manis, lembut, dan putih mirip dengan salju atau es krim. (Duke, 1983)

B. Ekstrak

Ekstraksi adalah proses pemisahan zat-zat dari bahan padat maupun cair menggunakan bantuan pelarut. Pelarut yang digunakan hanya mengekstrak tanpa menyebabkan material lain ikut. Pelarut yang biasanya digunakan yaitu etanol, metanol, n-heksan, etil asetat, aseton dan benzena. Proses ekstraksi pada dasarnya merupakan proses perpindahan massa dari komponen zat padat yang terdapat pada simplisia atau sumber lainnya ke dalam pelarut organik yang digunakan pada proses ekstraksi. Pelarut organik selanjutnya menembus dinding sel dan terus masuk ke dalam rongga sel tumbuhan yang mengandung zat aktif. Zat aktif selanjutnya akan terlarut ke dalam pelarut organik pada bagian luar sel untuk selanjutnya berdifusi masuk ke dalam pelarut. Proses ini terus berulang sampai

terjadi keseimbangan konsentrasi zat aktif antara zat yang terdapat di dalam sel dengan konsentrasi zat aktif yang berada di luar sel. Sampel yang diekstraksi dapat berbentuk sampel segar ataupun sampel yang telah dikeringkan. Sampel yang umumnya digunakan adalah sampel segar karena penetrasi pelarut akan berlangsung lebih cepat. Selain itu penggunaan sampel segar dapat mengurangi kemungkinan terbentuknya polimer resin atau artefak lain yang dapat terbentuk selama proses pengeringan. Penggunaan sampel kering juga memiliki kelebihan yaitu dapat mengurangi kadar air yang terdapat dalam sampel, sehingga dapat mencegah kemungkinan rusaknya senyawa akibat aktivitas anti mikroba. Berdasarkan suhu ekstraksinya metode ekstraksi terbagi menjadi 2 jenis yaitu ekstraksi cara panas dan cara dingin (Marjoni, 2022). Berikut merupakan beberapa contoh metode ekstraksi:

1. Cara dingin

a. Maserasi

Maserasi merupakan proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar) (Prayoga dkk 2020).

b. Perlokasi

Perlokasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu sampai sempurna (*Exhaustive Extraction*) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan proses terdiri dari tahapan pengembangan bahan. Tahap maserasi antara tahap perlokasi sebenarnya (penetasan, penampungan ekstrak) terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlah 1-5 kali bahan (Prayoga dkk, 2020).

2. Cara panas

a. Refluks

Refluks merupakan ekstraksi dengan pelarut tanpa temperatur titik didihnya selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna (Prayoga dkk, 2020).

b. Soxhlet

Soxhlet merupakan ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relative konstan dengan adanya pendingin balik (Prayoga dkk, 2020).

c. Digesti

Digesti merupakan maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih dari temperatur ruangan (kamar) yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-45°C (Prayoga dkk, 2020).

d. Infus

Infus Merupakan ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur mendidih, temperatur terukur 96-98°C) selama waktu tertentu (15-20 menit) (Prayoga dkk, 2020).

C. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk menganalisis kandungan bioaktif yang berguna untuk pengobatan. Skrining fitokimia pada hakikatnya adalah analisis secara kualitatif dari kandungan kimia yang terdapat dalam tumbuhan atau bagian tumbuhan (akar, batang, daun dan biji) terutama kandungan metabolit sekunder

yang merupakan senyawa bioaktif seperti alkaloid, antrakuinon, flavanoid, glikosida jantung, kumarin, saponin, tannin, polifenol dan minyak atsiri (Marjoni, 2022).

1. Alkaloid

Alkaloid adalah kelompok atau golongan kimia metabolit sekunder asal tumbuhan atau hewan dengan struktur yang mempunyai atom nitrogen (umumnya terikat dalam lingkaran heterosiklik), bersifat basa, serta mempunyai aktivitas fisiologis tertentu (Fikayuniar, 2022). Ciri khas alkaloid adalah bahwa semua 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). Menurut klasifikasinya, alkaloid dapat dibedakan atas beberapa jenis, yaitu alkaloid pirolidin, alkaloid piperidin, alkaloid isokuinolin, alkaloid indol, alkaloid piridin dan alkaloid tropana. Cara lain untuk mengklasifikasi alkaloid adalah klasifikasi yang didasarkan pada jenis tumbuhan darimana alkaloid ditemukan. Hanya saja kelemahannya adalah bahwa suatu alkaloid tertentu tidak hanya ditemukan pada satu keluarga tumbuhan tertentu saja (Kristanti dkk, 2019).

2. Saponin

Saponin adalah suatu glikosida yang ada pada banyak macam tanaman. Fungsi dalam tumbuh-tumbuhan tidak diketahui, mungkin sebagian bentuk penyimpanan karbohidrat, atau merupakan *waste product* dari metabolisme tumbuh-tumbuhan. Saponin adalah senyawa metabolit sekunder dalam tumbuhan yang bersifat dapat membentuk busa, serta dapat menghemolisis sel darah merah.

Struktur kimia umumnya merupakan glikosida, yang bila dihidrolisis akan menghasilkan bagian glikon (senyawa non gula). Struktur steroid, hingga ditinjau dari strukturnya saponin-steroid. Reaksi pengenalan saponin didasarkan pada sifatnya yang mampu memberikan busa pada pengocokan dan persisten pada penambahan sedikit asam atau pendiaman. Pereaksi HCl 2% dengan cara HCl pekat diambil sebanyak 1 ml dilarutkan dalam 50 ml akuades. Metode penapisan: diatas tangas air, dalam tabung reaksi, simplisia dicampur dengan air dan dipanaskan beberapa saat. Kemudian disaring, setelah dinding filtrat dalam tabung reaksi dikocok kuat-kuat selama lebih dari kurang 10-30 detik. Pembentukan busa sekurang-kurangnya setinggi 1–10 cm serta tidak hilang persisten selama 10 menit pada penambahan 1 tetes asam klorida (HCl) encer menunjukkan bahwa dalam simplisia terdapat saponin (Fikayuniar, 2022).

3. Tanin

Merupakan himpunan polihidroksi fenol yang dapat dibedakan dari fenol lain karena kemampuannya mengendapkan protein, hal ini bisa dibuktikan apabila tanin direaksikan dengan gelatin akan terbentuk endapan, karena gelatin merupakan salah satu jenis protein yang mampu diendapkan oleh tanin (Sriwahyuni, 2010). Pada tumbuhan tanin berfungsi sebagai pertahanan diri dari serangan bakteri, fungi, virus, insekta herbivora dan vertebrata herbivora. Tanin juga penting untuk mencegah degradasi nutrien yang berlebihan di dalam tanah (Setiasih dkk, 2015).

4. Flovanoid

Flovanoid merupakan salah satu golongan fenol alam terbesar yang terdapat dalam semua tumbuhan berpembuluh. Semua flovanoid, menurut strukturnya

merupakan turunan senyawa induk flavon yang mempunyai sejumlah sifat yang sama. Dalam tumbuhan, aglikon flavonoid terdapat dalam berbagai bentuk struktur. Metode penampisan, senyawa dipanaskan dengan campuran logam magnesium (Mg) dan 1 ml asam klorida pekat (HCl pekat), kemudian disaring. Adanya flavonoid akan menyebabkan filtrat berwarna merah kuning, atau jingga yang dapat ditarik oleh amil alkohol. Untuk lebih memudahkan pengamatan sebaiknya menggunakan percobaan blanko (Fikayuniar, 2022).

5. Steroid

Senyawa steroid merupakan senyawa yang terdapat pada hewan dan tumbuhan. Steroid pada tumbuh-tumbuhan secara umum terdapat dalam bentuk sterol (Kurnia dkk, 2017).

D. Uji aktivitas antioksidan

Aktivitas antioksidan didefinisikan sebagai kemampuan dari suatu komponen atau senyawa aktif dalam menghambat serangan radikal bebas. Pengujian aktivitas antioksidan dapat diukur dan dilakukan dengan beberapa metode yaitu :

1. *Ferric reducing antioxidant power (FRAP)*

Metode FRAP merupakan suatu metode penentuan kandungan antioksidan berdasarkan pada kemampuan senyawa antioksidan untuk mereduksi ion Fe^{3+} dari $\text{Fe}(\text{TPTZ})^{3+}$ yang berwarna biru menjadi ion Fe^{2+} dari $(\text{TPTZ})^{2+}$ yang berwarna kuning pada suasana asam, dengan peningkatan nilai absorbansi menunjukkan besarnya aktivitas antioksidan dari sampel.

2. *Cupric ion reducing antioxidant (CUPRAC)*

Metode CUPRAC bekerja dengan prinsip pereaksi $\text{Cu}(\text{Nc})^{2+}$ yang berwarna biru akan mengalami reduksi menjadi $\text{Cu}(\text{Nc})^{2+}$ yang berwarna kuning melalui transfer elektron sampel (Marjoni, 2022).

3. *2-2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline- 6-sulphonic acid) (ABTS)*

Menstabilkan Warna Untuk mengetahui kemampuan antioksidan untuk menstabilkan warna dapat digunakan metode *2-2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline- 6-sulphonic acid) (ABTS)*. Metode ABTS bekerja dengan prinsip penghilang warna kation ABTS oleh antioksidan sehingga kapasitas antioksidan yang baik dapat diukur. ABTS merupakan senyawa radikal bebas stabil dengan warna biru kehijauan, saat berada dalam kondisi non radikal bebas maka ABTS menjadi tidak berwarna (Marjoni, 2022).

4. *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)*.

Kemampuan antioksidan untuk mendonorkan atom hidrogen pada radikal bebas dapat digunakan metode *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)*. Senyawa *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)* merupakan senyawa aradikal berbentuk nitrogen buatan yang relatif stabil dan sering digunakan dalam evaluasi kapasitas penghambatan radikal bebas. Prinsip kerja metode DPPH adalah atom hidrogen yang berasal dari senyawa antioksidan akan berikatan dengan elektron bebas yang terdapat pada senyawa radikal sehingga menyebabkan perubahan dari radikal bebas (*diphenylcryhydrazyl*) menjadi senyawa non radikal (*diphenylcryhydrzine*). Senyawa radikal bebas akan tereduksi akibat adanya antioksidan sehingga menyebabkan terjadinya perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning yang diukur pada panjang gelombang serapan maksimum 520 nm. Aktivitas

antioksidan dilakukan menggunakan metode DPPH karena merupakan metode yang sederhana, murah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel. Kapasitas antioksidan dihitung berdasarkan nilai *Inhibition Concentration* (IC₅₀), yaitu konsentrasi dari senyawa antioksidan yang mampu menghambat 50% dari radikal bebas. Nilai IC₅₀ akan berbanding terbalik dengan kapasitas antioksidan, artinya semakin kecil nilai IC₅₀ maka semakin tinggi kapasitas antioksidan sampel tersebut (Marjoni, 2022).

Tabel 1
Kriteria IC₅₀ (*Inhibition Concentration* 50)

Nilai IC ₅₀ (ppm)	Kategori
<50	Sangat Kuat
50-100	Kuat
100-150	Sedang
150-200	Lemah

Sumber : Rumagit dkk (2015)

Antioxidant Activity Index (AAI) adalah suatu metode yang berguna untuk menyamakan hasil pengujian antioksidan berdasar dengan metode DPPH. Nilai AAI digunakan untuk menggolongkan suatu sifat antioksidan ekstrak. Antioxidant Activity Index (AAI) dapat ditentukan dengan rumus :

$$AAI = \frac{\text{Konsentrasi DPPH } (\mu\text{g/mL})}{IC_{50}(\mu\text{g/mL})}$$

Aktivitas antioksidan dalam suatu ekstrak atau senyawa berdasarkan AAI dibagi menjadi 4, yaitu AAI < 0,5 artinya aktivitas antioksidan lemah, AAI 0,5 – 1,0 yang artinya aktivitas antioksidan sedang , AAI 1,0 – 2,0 yang bermakna aktivitas antioksidan kuat, AAI > 2,0 berarti aktivitas antioksidan sangat kuat (Firdaus, 2013).

