

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Pustaka

2.1.1 Temu Blenyeh (*Curcuma purpurascens* Blume)

Curcuma purpurascens Blume merupakan salah satu tanaman yang kurang dikenal diantara spesies *Curcuma* dan dianggap kurang penting, sehingga jarang diteliti (Walker, 2016). Tanaman ini juga dikenal dengan nama koneng tinggang dan temu tis (Rouhollahi *et al.*, 2014).



(a)



(b)

Gambar 2.1. Temu Blenyeh (*Curcuma purpurascens* Bl.).
(a) tanaman, (b) rimpang

1. Klasifikasi Temu Blenyeh

Menurut Backer & van den Bakhuizen, (1963) klasifikasi tanaman blenyeh dikelompokkan sebagai berikut :

Kingdom : Plantae

Phylum : Tracheophyta

Kelas : Lillipsida

Ordo : Zingiberales

Famili : Zingiberaceae

Genus : Curcuma

Spesies : *Curcuma purpurascens* Blume

2. Morfologi Temu Blenyeh

Temu blenyeh merupakan tumbuhan terna yang dapat tumbuh hingga 1,75 meter, biasanya berbunga antara bulan Oktober hingga Februari. Batang temu blenyeh berbentuk rimpang, tunas temu blenyeh memiliki warna kuning pucat. Ada perbedaan antara kunyit dan temu blenyeh yang terlihat dari kulitnya. Temu blenyeh memiliki kulit yang lebih pucat dan ukuran yang lebih besar dibandingkan kunyit, serta kulitnya cenderung kuning kehitaman (Hong *et al.*, 2014). Rimpang temu blenyeh memiliki morfologi yang mirip dengan jenis temu lainnya, dengan cabang rimpang berwarna oranye-kuning di luar dan putih di ujungnya. Daunnya berbentuk bulat memanjang, panjangnya antar 55-70 cm dan lebar 19-23 cm, berwarna hijau, tetapi tulang daun utamanya berwarna keunguan (Rouhollahi *et al.*, 2014).

Rimpang temu blenyeh memiliki cabang berwarna kuning-jingga di bagian dalam dan berwarna keputihan hingga ke ujungnya. Terdapat bunga diujung daunnya, di mana bagian pangkal daunnya berwarna putih, sedangkan sebagian besar berwarna hijau pucat dengan sedikit warna coklat pucat dan bercak-bercak di atasnya. Bunga temu blenyeh memiliki mahkota putih yang dapat mencapai panjang 5 cm dengan daun berbentuk elips dan pelepah daun bagian atasnya agak berwarna ungu (Rouhollahi, 2016). Batang rimpang temu blenyeh dapat tumbuh hingga setinggi 1 m dari rimpang yang bercabang. Setiap batang

memiliki beberapa helai daun dengan ukuran antar 19-23 cm dan 55-77 cm (Rajkumari and Sanatombi, 2017).

3. Manfaat Tanaman

Temu blenyeh memiliki berbagai manfaat, antara lain sebagai bahan campuran dalam masakan dan sebagai obat tradisional oleh masyarakat (Rouhollahi *et al.*, 2015). Masyarakat sering menggunakan temu blenyeh dalam ramuan tradisional, seperti mencampurkannya dengan adas dan pulosari untuk dijadikan boreh atau tapel bagi wanita setelah melahirkan (Mohamed *et al.*, 2014). Di daerah lain, seperti di Jawa dan Bali, temu blenyeh umumnya digunakan untuk mengobati berbagai masalah kesehatan, termasuk luka, maag, sakit perut, kesemutan pada kulit dan sebagai obat luar untuk membantu menurunkan demam (Sinaga & Rina, 2018).

4. Kandungan Rimpang Temu Blenyeh

Menurut Suprihatin *et al.*, (2020), rimpang temu blenyeh mengandung senyawa aktif metabolit sekunder seperti flavonoid, saponin, quinin, triterpenoid, dan minyak atsiri. Minyak atsiri temu blenyeh juga mengandung beberapa komponen utama, diantaranya turmerone (13,5%), germacone1 (3,2%), ar-turmerone (9,4%), germacrene B (8,8%), curlone (6,2%), curzerene (5,8%), kamper (4,0%), 1,8-cineole (3,3%), sesquiphellandrene (2,7%), ar-curcumene (2,6%), trans-caryophyllene (1,8%), β -elemen (1,6%), dan β -selinene (1,3%) (Hong *et al.*, 2014). Selain itu, penelitian oleh Pramiastuti *et al.*, (2021) menunjukkan bahwa temu blenyeh juga mengandung senyawa antioksidan yang sangat kuat. Senyawa antioksidan ini berfungsi untuk menetralkan radikal bebas dan

menghambat oksidasi dalam sel dalam tubuh, sehingga dapat mencegah atau mengurangi kerusakan sel

2.1.2 Metode Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan senyawa dari simplisia dengan menggunakan pelarut yang tepat. Metode ini berlandaskan pada prinsip kelarutan “*like dissolves like*” di mana pelarut polar melarutkan senyawa polar, sedangkan pelarut non-polar melarutkan senyawa non-polar. Tujuan utama dari ekstraksi untuk menarik atau memisahkan senyawa tertentu dari simplisia atau campurannya. Pemilihan metode ekstraksi harus mempertimbangkan jenis senyawa, pelarut yang digunakan dan peralatan yang tersedia (Syamsul, Amanda, et al., 2020).

1. Ekstraksi Dingin

a. Maserasi

Maserasi merupakan metode ekstraksi yang paling dasar dan telah ada sejak lama. Meskipun demikian, metode maserasi tetap banyak digunakan karena beberapa keuntungannya, seperti penggunaan peralatan yang sederhana dan murah, serta tidak melibatkan perlakuan panas. Hal ini menjadikannya pilihan yang tepat untuk ekstraksi senyawa yang sensitive terhadap panas atau tidak tahan terhadap suhu tinggi (Nugroho, 2017).

b. Perkolasi

Dalam metode perkolasi, serbuk sampel dibasahi secara bertahap dalam sebuah perkolator, yaitu wadah silinder yang dilengkapi kran dibagian bawah. Pelarut ditambahkan dari atas

dan dibiarkan menetes perlahan ke bawah. Adapun kelebihan metode perkolasi diantaranya sampel selalu teraliri oleh pelarut baru. Namun, jika sampel dalam perkolator tidak homogen, pelarut akan sulit menjangkau seluruh area. Selain itu, metode ini memerlukan banyak pelarut dan waktu yang cukup lama (Tetti, 2014).

2. Ekstraksi Panas

a. Soxhletasi

Soxhletasi merupakan metode ekstraksi dengan pemanasan yang dapat menghasilkan lebih banyak ekstrak, menggunakan pelarut yang lebih sedikit (efisiensi bahan) dan mempersingkat waktu ekstraksi. Metode ini juga memastikan bahwa sampel diekstraksi secara menyeluruh melalui proses berulang. Selain itu, aktivitas biologis tetap terjaga selama pemanasan, sehingga teknik ini cocok digunakan dalam pencarian senyawa obat (Nugroho, 2017).

b. Refluks

Ekstraksi refluks merupakan salah satu metode ekstraksi yang paling umum digunakan. Metode ini dianggap murah dan sederhana, serta menghasilkan rendemen yang relatif tinggi dibandingkan dengan maserasi atau perkolasi. Dalam proses refluks, pelarut terus berputar dan digunakan kembali melalui kondensasi yang berulang dalam kondensor (Nugroho, 2017).

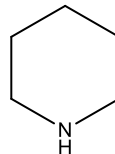
2.1.3 Skrining Fitokimia

Analisis fitokimia secara kualitatif dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa kimia dan golongan senyawa yang terdapat pada

temu blenyeh. Macam-macam skrining fitokimia yang dapat dilakukan meliputi :

1. Alkaloid

Alkaloid merupakan kelompok metabolit sekunder yang paling penting ditemukan pada tumbuhan. Keberadaan alkaloid di alam tidak berdiri sendiri, melainkan terdiri dari campuran beberapa alkaloid utama dan sejumlah yang lebih kecil. Definisi yang tepat untuk istilah alkaloid (yang mirip dengan alkali) cukup sulit karena tidak ada batasan yang jelas antara alkaloid dan amina kompleks yang terjadi secara alami. Alkaloid yang berasal dari tumbuhan biasanya bersifat basa, mengandung satu atau lebih atom nitrogen (seringkali dalam cincin heterosiklik) dan umumnya memiliki aktivitas fisiologis pada manusia atau hewan lainnya (Julianto, 2019).

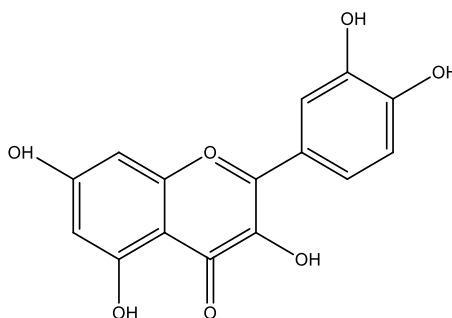


Gambar 2.2. Struktur Dasar Alkaloid (Khotimah, 2016).

Alkaloid dapat ditemukan di biji, daun, ranting, dan kulit kayu tumbuhan. Kadar alkaloid dalam tumbuhan bisa mencapai 10-15%. Meskipun sebagian besar alkaloid bersifat racun, ada juga yang sangat bermanfaat dalam bidang pengobatan. Alkaloid umumnya tidak berwarna, sering kali memiliki aktivitas optik dan kebanyakan berbentuk kristal, meskipun ada beberapa yang berbentuk cair, seperti nikotin pada suhu kamar (Khotimah, 2016).

2. Flavonoid

Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenolik terbesar di alam. Keberagaman senyawa flavonoid disebabkan oleh berbagai tingkat hidroksilasi, alkoksilasi dan glikolisasi pada strukturnya. Lebih dari 2000 jenis flavonoid yang berasal dari tumbuhan telah diidentifikasi, termasuk senyawa antosianin, flavonol dan flavon. Antosianin (dari bahasa Yunani Anthos = bunga, kyanos = biru tua) adalah pigmen berwarna yang umumnya ditemukan pada bunga berwarna merah, ungu dan biru. Pigmen ini juga terdapat di berbagai bagian tumbuhan lainnya seperti buah, batang, daun dan bahkan akar. Sebagian besar flavonoid tersimpan dalam vakuola sel tumbuhan meskipun proses sintesisnya terjadi di luar vakuola (Julianto, 2019).

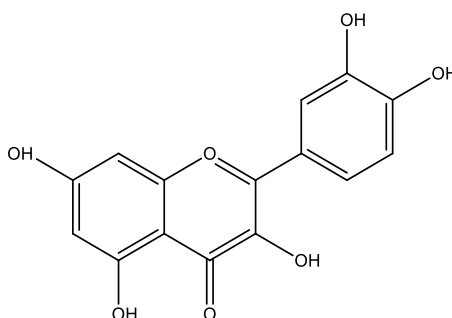


Gambar 2.3. Struktur Flavonoid (Redha, 2013).

Flavonoid berinteraksi sebagai antioksidan dengan menangkap radikal bebas melalui donasi atom hidrogen. Secara umum, efektivitas flavonoid dalam menangkap radikal tergantung pada substitusi gugus hidroksi dan kemampuan stabilitas radikal fenolik melalui ikatan hidrogen atau delokalisasi elektron. Radikal fenoksi flavonoid distabilkan oleh delokalisasi elektron yang tidak

berpasangan di sekitar cincin aromatik. Stabilitas radikal fenoksi ini (reaksi oksigen reaktif) dapat mengurangi kecepatan perambatan autooksidasi dalam reaksi berantai (Amin *et al.*, 2015).

Flavonoid dikelompokkan berdasarkan cincin heterosiklik yang mengandung oksigen tambahan dan gugus hidroksil. Salah satu kelompok senyawa flavonoid adalah kuersetin, yang memiliki lima gugus hidroksil dan mampu meredam radikal bebas. Kuersetin merupakan senyawa flavonoid yang termasuk dalam derivet polifenol dan diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang dapat menghambat serangan radikal bebas terhadap asam linoleat. Radikal bebas ini menyerang ikatan rangkap tidak jenuh pada β -carotene (Salamah & Farahana, 2014a).



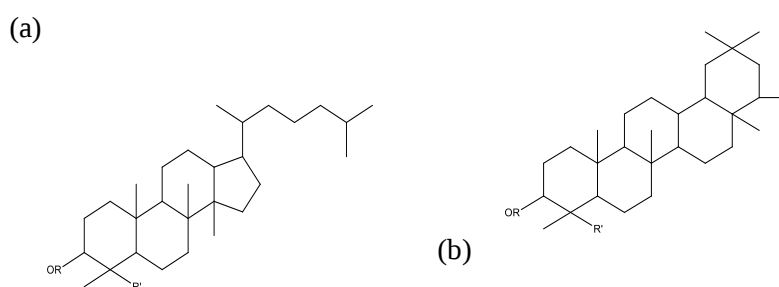
Gambar 2.4. Struktur Kuersetin (Asmorowati & Lindawati, 2019).

3. Steroid/triterpenoid

Steroid atau sterol merupakan triterpenoid yang memiliki struktur dasar siklopentana perhidrofenantren dan biasanya larut dalam pelarut yang kurang polar (Latifah, 2015).

Terpen merupakan senyawa yang terdiri dari isoprene $\text{CH}_2=\text{C}(\text{CH}_3)-\text{CH}=\text{CH}_2$, dengan kerangka karbon yang terbentuk dari penyambungan dua atau lebih unit C_5 . Terpenoid mencakup berbagai jenis senyawa, seperti monoterpena dan

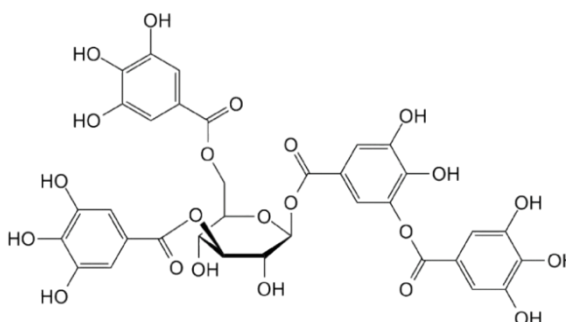
seskuiterpen yang mudah menguap, diterpen yang lebih sukar menguap, serta triterpene dan sterol yang tidak menguap. Umumnya, senyawa ini larut dalam lemak dan ditemukan dalam sitoplasma sel tumbuhan. Senyawa-senyawa ini biasanya diekstraksi menggunakan petroleum eter, eter, atau kloroform. Steroid merupakan jenis senyawa triterpene yang hadir dalam bentuk glikosida



Gambar 2.5. (a) Struktur Steroid, (b) Struktur Triterpenoid (Latifah, 2015).

4. Tanin

Tanin umumnya didefinisikan sebagai senyawa polifenol yang dapat membentuk kompleks dengan protein, menghasilkan kopolimer yang tidak larut dalam air. Ada dua jenis utama tanin yaitu tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi (Mabrurroh, 2015).



Gambar 2.6. Struktur Tanin (Khotimah, 2016)

Secara kimia, tannin dibagi menjadi dua kelompok yaitu tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis. Tanin terkondensasi, atau

flavolan secara biosintesis dianggap terbentuk melalui kondensasi katekin tunggal, yang menghasilkan senyawa dimer dan kemudian oligomer yang lebih besar. Sementara itu tanin terhidrolisis memiliki ikatan ester yang dapat terhidrolisis jika direbus dalam larutan asam klorida encer (Khotimah, 2016).

2.1.4 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis merupakan metode pemisahan fisik kimia yang menggunakan lapisan pemisah berupa butir-butir yang diletakkan pada penyangga seperti gelas, logam, atau lapisan lainnya yang sesuai (fase diam). Lapisan fase diam ini dimasukkan ke dalam bejana tertutup yang berisi larutan (fase gerak) yang tepat (Pavia *et al.*, 2006). Kromatografi lapis tipis banyak digunakan karena metode yang paling sederhana untuk membongkar komponen-komponen kecil dengan menggunakan plat aluminium yang dilapisi penyerap (misalnya silika gel) dengan ketebalan tertentu yang disesuaikan dengan jumlah bahan yang akan dimuat pada plat analisis. Ketebalan yang umum digunakan adalah 2,0 mm, sedangkan untuk lempeng preparatif ketebalannya mencapai 1-2 cm (Heinrich *et al.*, 2004).

Proses kerja kromatografi lapis tipis mencakup proses adsorpsi, desorpsi, dan elusi. Adsorpsi terjadi ketika larutan sampel ditotolkan pada plat KLT (fase diam) dengan menggunakan pipa kapiler, komponen-komponen yang di dalam sampel akan terabsorpsi di dalam fase diam. Desorpsi merupakan peristiwa yang terjadi ketika komponen yang teradsorpsi di fase diam didesak oleh eluen (fase gerak) sehingga terjadi persaingan antara eluen dengan komponen

untuk berkaitan dengan fase diam. Elusi merupakan peristiwa ketika komponen ikut terbawa oleh eluen (Stahl, 1985).

Prinsip dari KLT merupakan suatu analisis bergerak melintasi lapisan fase diam di bawah pengaruh fase diam yang bergerak melalui fase diam. Semakin polar fase gerak maka semakin besar partisipasi ke dalam fase diam, semakin sedikit waktu untuk fase gerak bergerak maka semakin kecil jarak tempuh senyawa pada plat yang berhasil naik (Sumarno, 2001).

Kromatografi lapis tipis digunakan untuk identifikasi senyawa yang ada dalam campuran secara kualitatif dengan membandingkan R_f baku pembanding dengan R_f sampel, selain itu KLT merupakan teknik analisis yang sederhana, hemat biaya, mudah untuk dilakukan dan cuplikan sampel untuk analisis yang digunakan sedikit (Coskun, 2016).

2.1.5 Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang sangat penting bagi tubuh manusia karena berfungsi untuk melawan efek negatif radikal bebas yang dapat merusak sel-sel. Radikal bebas adalah atom atau molekul yang tidak stabil akibat kehilangan satu atau lebih elektron. Kehilangan ini membuat radikal bebas sangat reaktif dan cenderung mencari elektron dari molekul lain di sekitarnya untuk mencapai kestabilan. Proses ini, yang dikenal sebagai stress oksidatif, terjadi ketika jumlah radikal bebas melebihi kapasitas antioksidan alami dalam tubuh untuk menangkap dan menetralkannya (Marjoni et al., 2015). Stres oksidatif adalah kondisi tidak seimbang antara jumlah elektron radikal bebas dan antioksidan dalam tubuh. Radikal bebas

adalah atom yang tidak stabil karena kehilangan pasangan elektronnya (Wulan *et al.*, 2019).

Antioksidan dibagi menjadi dua kategori, yaitu antioksidan alami dan sintetik. Antioksidan alami merupakan senyawa yang secara alami terdapat dalam bahan pangan, baik yang terbentuk melalui reaksi selama proses pengolahan maupun yang diisolasi dari sumber alami untuk digunakan sebagai bahan tambahan makanan. Contoh antioksidan alami meliputi Vitamin A, Vitamin C, Vitamin E, polifenol, glutathione, asam ellagic, dan lainnya. Sementara itu, antioksidan sintetik adalah senyawa yang dihasilkan dari reaksi kimia dan telah diproduksi untuk keperluan komersial (Mailani, 2016).

Antioksidan alami dianggap lebih aman untuk dikonsumsi secara toksikologi dan lebih mudah diserap oleh tubuh dibandingkan dengan antioksidan sintetik. Antioksidan sintetik seperti butil hidroksianisol (BHA), butil hidroksitoluena (BHT), propil galat (PG), dan tert-butil hidroksiquinon (TBHQ) sering digunakan untuk mengendalikan oksidasi, tetapi ada kemungkinan bahwa senyawa-senyawa ini dapat menyebabkan efek karsinogenik (Komayaharti & Paryanti, 2009). Penelitian Latifah, (2015) menunjukkan bahwa aktivitas antioksidatif antioksidan alami lebih tinggi dibandingkan dengan antioksidan sintetik. Oleh karena itu, penggunaan antioksidan alami semakin meningkat dan mulai menggantikan antioksidan sintetik.

Senyawa antioksidan alami yang berasal dari tumbuhan umumnya terdiri dari senyawa fenolik atau polifenolik, yang mencakup golongan flavonoid, kumarin, tokoferol, dan asam organik.

Senyawa polifenolik berfungsi sebagai pereduksi dan penangkap radikal bebas. Antioksidan alami dapat diperoleh dari tanaman atau hewan, dan mencakup tokoferol, vitamin C, β -carotene, flavonoid, serta senyawa fenolik (Kumalaningsih & Bebas, 2006). Berdasarkan mekanisme kerjanya, antioksidan dapat dikelompokkan menjadi tiga kategori yaitu antioksidan primer, sekunder dan tersier (Inggrid and Santoso, 2014).

a. Antioksidan Primer

Antioksidan primer mencakup enzim superoksida dismutase (SOD), katalase, dan glutathion peroksida (GSH-Px), yang juga dikenal sebagai antioksidan enzimatis. Antioksidan primer berfungsi dengan mencegah pembentukan senyawa radikal bebas baru atau mengubah pembentukan senyawa radikal bebas baru atau mengubah radikal bebas yang ada menjadi molekul yang kurang reaktif (Nurkhasanah *et al.*, 2023).

b. Antioksidan Sekunder

Sementara itu, antioksidan sekunder yang juga disebut sebagai antioksidan non-enzimatis berperan sebagai pertahanan preventif dengan menghambat senyawa oksigen reaktif melalui pengikatan logam atau mengurangi pembentukannya dalam cairan ekstraseluler (Mu'nisa, 2023).

c. Antioksidan Tersier

Antioksidan tersier meliputi sistem enzim perbaikan DNA dan metionin sulfoksida reduktase, yang berfungsi untuk memperbaiki biomolekul yang rusak akibat aktivitas radikal bebas (Evans and Bruckdorfer, 1992).

Antioksidan juga dapat dikelompokkan berdasarkan kelarutannya menjadi antioksidan hidrofilik dan hidrofobik. Antioksidan hidrofilik atau yang larut dalam air adalah antioksidan yang bereaksi dengan ROS di sitoplasma sel dan plasma darah, contohnya asam askorbat, glutathione, dan asam urat. Sementara itu antioksidan hidrofobik yang berasal dari lipid peroksida termasuk karoten, α -tokoferol, dan ubiquinone (Andarina and Djauhari, 2017). Karena antioksidan yang dihasilkan oleh tubuh (endogen) sering kali tidak cukup untuk melawan radikal bebas, setiap orang memerlukan tambahan antioksidan dari luar agar dapat mengurangi dampak kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas (Nurkhasanah *et al.*, 2023).

2.1.6 Radikal Bebas

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang tidak stabil dan sangat reaktif karena memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan di orbital terluarnya. Kondisi ini membuat radikal bebas cenderung bereaksi dengan molekul di sekitarnya untuk mencapai kestabilan yang sering kali dapat merusak biomolekul seperti lipid, protein dan DNA. Tetapi jika proses ini tidak stabil terkendali, dapat menyebabkan stres oksidatif yang berpotensi merusak sel-sel tubuh secara signifikan. Stres oksidatif akibat reaksi berkelanjutan dengan radikal bebas dapat menjadi faktor utama dalam perkembangan berbagai penyakit degeneratif seperti kanker, penyakit jantung, katarak, penuaan dini, diabetes mellitus dan kondisi kardiovaskular lainnya (Sugihartini & Maryati, 2022).

Radikal bebas juga diketahui berperan dalam memperburuk peradangan dan mempercepat proses penuaan serta dapat meningkatkan resiko terhadap zat karsinogenik yang dapat memicu kanker (Rizkayanti *et al.*, 2017). Meskipun tubuh membutuhkan sejumlah kecil radikal bebas dapat berbahaya. Mereka dapat menyerang dan merusak sel-sel sehat, mengganggu struktur dan fungsi sel tersebut bahkan menyebabkan kematian sel jika kerusakan terjadi secara signifikan. Oleh karena itu, penting untuk mengonsumsi senyawa antioksidan dalam diet atau suplemen harian. Antioksidan bekerja dengan menyumbangkan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas, sehingga dapat menghentikan reaksi berantai yang merusak dan memperlambat proses stres oksidatif dalam tubuh (Rohmah *et al.*, 2020).

Proses pembentukan radikal bebas umumnya mirip dengan *rancidity oxidative*, yang melalui tiga tahap reaksi yaitu inisiasi, propagasi, dan terminasi. Mekanisme kerjanya sebagai berikut :

a. Tahap Inisiasi

Inisiasi merupakan tahap awal dalam pembentukan radikal bebas. Pada fase ini, asam lemak (RH) bereaksi dengan oksigen triplet, menghasilkan radikal lemak ($R^{\bullet}$) dan radikal peroksida ($HOO^{\bullet}$) dengan bantuan inisiator seperti cahaya atau panas (Sayuti and Yenrina, 2015).

b. Tahap Propagasi

Propagasi merupakan tahap dimana rantai radikal mulai memanjang atau reaksi di mana radikal bebas diubah menjadi radikal lainnya. Pada tahap ini radikal lemak ($R^{\bullet}$) mengalami

oksigenasi untuk membentuk radikal peroksida ($\text{ROO}\bullet$). Proses oksigenasi ini berlangsung sangat cepat dengan energi aktivasi yang hampir nol, sehingga konsentrasi $\text{ROO}\bullet$ yang terbentuk jauh lebih tinggi. Dalam sistem makanan, konsentrasi $\text{R}\bullet$, yang mengalami oksidasi, akan bereaksi dengan asam lemak baru ($\text{R}'\bullet$) (Wachidah, 2013). Reaksi propagasi ini dapat terjadi berulang kali sebelum radikal peroksida memutus rantai dan membentuk senyawa non-radikal. Dekomposisi homolitik hidroperoksida yang dihasilkan dari reaksi propagasi juga meningkatkan tingkat inisiasi melalui produksi radikal. Laju reaksi antara molekul oksigen dan radikal alkil untuk membentuk radikal peroksida jauh lebih tinggi dibandingkan dengan laju reaksi radikal peroksida dengan atom hidrogen dari substrat (Sayuti and Yenrina, 2015).

c. Tahap Terminasi

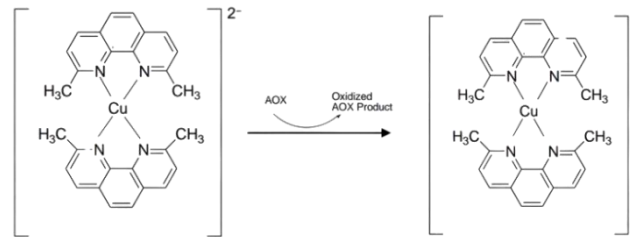
Senyawa radikal yang berinteraksi dengan radikal lain atau dengan penangkap radikal memiliki potensi propagasi yang rendah. Pada tahap terminasi, spesies non-radikal terbentuk akibat reaksi antara radikal bebas. Di sisi lain, hidroperoksida akan terdekomposisi menjadi produk yang lebih stabil, seperti alkohol, asam keton, dan substrat lainnya (Sayuti and Yenrina, 2015).

2.1.7 Aktivitas Antioksidan

1. Uji Antioksidan Metode CUPRAC

Metode CUPRAC (*Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity*) awalnya dikembangkan sebagai teknik Spektrofotometri untuk menguji TAC (*Total Antioxidant Capacity*) dan telah diperluas melalui beberapa modifikasi. Metode ini dinamakan “*Cupric Ion*

Reducing Antioxidant Capacity” karena kemampuannya dalam mengurangi ion cuprum saat mengukur antioksidan polifenol dan plasma (Apak *et al.*, 2007).



Gambar 2.7. Reaksi Reduksi Kompleks Tembaga (II) pada Metode CUPRAC (Özyürek *et al.*, 2011)

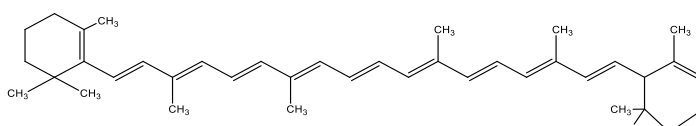
Kelebihan penggunaan metode CUPRAC untuk pengukuran antioksidan terletak pada kecepatan reagen dalam mengoksidasi tiol jenis antioksidan. Reagen ini bersifat selektif karena memiliki potensial redoks yang lebih rendah. Selain itu, reagen CUPRAC lebih stabil dan dapat diperoleh dengan mudah dibandingkan dengan kromagenik lainnya, seperti ABTS atau DPPH. Metode CUPRAC juga mudah diterapkan di laboratorium konvensional menggunakan standar kolorimeter tanpa memerlukan peralatan canggih atau operator yang khusus terlatih (Maryam *et al.*, 2015).

Reagen CUPRAC terdiri dari tembaga klorida yang dikombinasikan dengan neokuproin dalam dapar ammonium asetat pada pH 7. Kompleks Cu(II) menjadi Cu(I), maka pada saat yang sama, sampel akan teroksidasi, sehingga berfungsi sebagai antioksidan. Potensial redoks dari sampel adalah faktor kunci dalam pengujian CUPRAC, dimana sampel akan teroksidasi jika memiliki potensial reduksi yang kurang dari potensial reduksi $\text{Cu}(\text{Nc})_2^{2+}/\text{Cu}(\text{Ne})_2^-$ 0,6 V (Özyürek *et al.*, 2011).

2. Uji Antioksidan Metode β -Carotene Bleaching

Metode β -carotene bleaching merupakan teknik untuk mengukur aktivitas antioksidan dalam menghambat peroksidasi lipid. Metode ini berfokus pada kemampuan antioksidan untuk mencegah atau mengurangi pemudaran warna jingga karoten akibat oksidasi yang disebabkan oleh radikal peroksida yang terbentuk saat oksidasi asam linoleate. Laju pemudaran β -carotene dapat diperlambat oleh keberadaan antioksidan lainnya (Kulisic *et al.*, 2004).

Prinsip dari metode ini pemutihan β -carotene yang terjadi akibat hilangnya warna kuningnya, disebabkan oleh reaksi dengan radikal yang terbentuk dari oksidasi asam linoleate dalam emulsi. Dalam metode ini, β -carotene mengalami perubahan warna dengan cepat tanpa kehadiran antioksidan. Radikal bebas dari asam linoleate yang dihasilkan melalui pengambilan atom hidrogen dari gugus metilena menyerang molekul β -carotene yang tidak jenuh. Akibatnya, β -carotene teroksidasi dan sebagian terurai, sehingga sistem kehilangan gugus kromotor dan warna jingga khasnya, yang dapat dipantau dengan Spektrofotometri (Taibah, 2019).



Gambar 2.8. Struktur β -Carotene (Robinson, 1995).

2.1.8 Inhibitor Concentration (IC₅₀)

Persen inhibisi merupakan kemampuan suatu bahan untuk menghambat aktivitas radikal bebas, yang berkaitan dengan

konsentrasi bahan tersebut. Aktivitas antioksidan dinyatakan dalam bentuk presentase penghambatan yang diperoleh dari selisih antara nilai absorbansi blanko dan absorbansi sampel. Parameter yang digunakan untuk menunjukkan aktivitas antioksidan adalah *Inhibitor Cocentration* (IC_{50}) (Cahyani, 2017).

Nilai IC_{50} menggambarkan konsentrasi suatu zat antioksidan yang mampu memberikan presentase penghambatan sebesar 50%. Semakin kecil nilai IC_{50} , semakin kuat aktivitas antioksidan dari sampel yang digunakan, sehingga jumlah ekstrak yang diperlukan untuk menghambat 50% aktivitas radikal bebas semakin sedikit. Dengan demikian, nilai IC_{50} yang rendah menunjukkan aktivitas antioksidan yang tinggi (Saroyo & Arifah, 2021).

Tabel 2.1. Tingkat Kekuatan Antioksidan
(Puspitasari & Wulandari, 2017)

Intensitas Antioksidan	Nilai IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
Sangat kuat	< 50
Kuat	50-100
Sedang	101-150
Lemah	151-200
Sangat lemah	>200

2.1.9 Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis merupakan metode analisis yang menggunakan panjang gelombang dalam rentang UV dan cahaya tampak untuk mendeteksi keberadaan senyawa tertentu. Metode ini sangat efektif untuk mengidentifikasi senyawa yang memiliki gugus kromotor dan auksokrom. Salah satu keunggulan utama dari Spektrofotometri UV-Vis merupakan kecepatan analisisnya yang lebih tinggi dibandingkan metode lain. Pengujian dengan teknik ini relatif

cepat, sehingga memungkinkan perolehan hasil dalam waktu singkat. Selain itu, teknik ini juga dapat mendeteksi zat dalam jumlah kecil dengan sensitivitas tinggi dan memberikan hasil yang akurat serta dapat diandalkan (Sahumena *et al.*, 2020).

Studi terbaru menunjukkan bahwa Spektrofotometri UV-Vis kini menjadi pilihan utama dalam berbagai aplikasi analisis kimia dan biokimia. Hal ini disebabkan tidak hanya oleh kemudahan penggunaannya, tetapi juga oleh ketersediaan peralatan yang semakin canggih. Metode ini tidak hanya mempercepat proses analisis, tetapi juga menghasilkan data yang dapat diandalkan dalam berbagai scenario pengujian (Supriatna *et al.*, 2023).

Prinsip kerja Spektrofotometri UV-Vis berfokus pada interaksi cahaya monokromatik dengan medium (larutan), dimana sebagian cahaya diserap (I), sebagian dipantulkan (I_r), dan sebagian lainnya diteruskan sebagai radiasi (I_t). Untuk aplikasi pengukuran kuantitatif analisis dilakukan secara relatif menggunakan kurva standar untuk mengukur unsur pada konsentrasi rendah, baik secara kuantitatif maupun kualitatif pada panjang gelombang tertentu (Gandjar and Rohman, 2007). Puncak dalam spektrum dapat menunjukkan identitas unsur yang ada. Penentuan kuantitatif dilakukan dengan mengukur absorbansi berdasarkan spektrum yang dihasilkan oleh senyawa kompleks sesuai dengan unsur yang dianalisis. Hukum *Lambert-Beer* yang menjadi dasar pengukuran Spektrofotometri UV-Vis menyatakan bahwa intensitas cahaya yang diteruskan melalui media transparan

sebanding dengan ketebalan dan sifat media termasuk pelarut yang digunakan (Rantung *et al.*, 2021).

Spektrofotometri merupakan teknik yang menghasilkan spektrum cahaya dengan panjang gelombang dan intensitas tertentu yang dapat diukur dan dianalisis, baik dalam hal transmisi maupun absorpsi. Dengan demikian, Spektrofotometri UV-Vis tidak hanya mempermudah identifikasi zat secara cepat dan efisien, tetapi juga memberikan standar keakuratan tinggi dalam analisis kimia modern. Teknik ini terus berkembang dan memberikan kontribusi signifikan dalam pemahaman sifat molekuler berbagai senyawa di berbagai bidang ilmu dan teknologi. Alat ini berguna untuk mengevaluasi energi yang diteruskan, dipantulkan, atau dipancarkan berdasarkan panjang gelombangnya, sehingga memungkinkan analisis mendalam tentang karakteristik cahaya yang terlibat dalam interaksi dengan objek yang diuji (Arbiyani *et al.*, 2023). Gambar Spektrofotometri UV-Vis yang digunakan :



Gambar 2.9. Spektrofotometri UV-Vis
(Sumber : Dokumentasi Pribadi, 2024)

2.1.10 Hukum Lambert-Beer

Hukum *Lambert-Beer* yang juga dikenal sebagai hukum *Beer*, menggambarkan hubungan linear antara absorbansi dan konsentrasi larutan analit (Dachriyanus, 2017). Prinsip hukum ini menyatakan

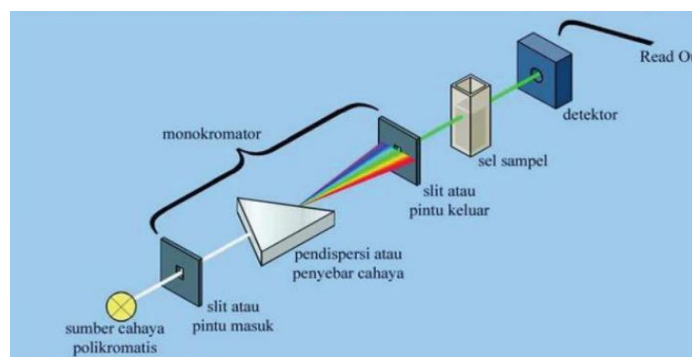
bahwa ketika cahaya monokromatik atau campuran memasuki suatu medium homogen, sebagian cahaya akan dipantulkan, sebagian diserap oleh medium dan sisanya akan diteruskan. Nilai absorbansi yang menunjukkan seberapa banyak cahaya diserap oleh sampel, memiliki hubungan erat dengan konsentrasi zat dalam larutan. Hukum *Beer* menjelaskan bahwa absorbansi cahaya akan meningkat seiring dengan bertambahnya konsentrasi zat dan ketebalan medium yang dilalui cahaya (Kahar, 2022).

Dengan kata lain hukum *Lambert-Beer* menyediakan dasar matematis untuk menentukan konsentrasi larutan analit berdasarkan absorbansi yang diukur. Prinsip ini sangat penting dalam Spektrofotometri UV-Vis dan berbagai teknik analisis kimia lainnya, karena membantu memahami interaksi anatar cahaya dan materi serta aplikasinya dalam ilmu kimia analitik modern (Gandjar & Rohman, 2007). Hukum *Lambert-Beer* menyatakan bahwa absorbansi larutan berhubungan secara linear dengan konsentrasi zat terlarut. Ini berarti semakin tinggi konsentrasi suatu larutan, semakin tinggi konsentrasi suatu larutan, semakin tinggi pula nilai absorbansinya dan sebaliknya. Namun, prinsip ini hanya berlaku dalam rentang tertentu yaitu ketika nilai absorbansi berada anatar 0,2 hingga 0,8. Rentang ini disebut daerah berlaku hukum *Lambert-Beer*, dimana hubungan antar absorbansi dan konsentrasi zat terlarut adalah linear. Ketika nilai absorbansi melebihi 0,8, hubungan antara absorbansi dan konsentrasi menjadi tidak linear (Ahriani *et al.*, 2021). Alat yang digunakan untuk mengukur absorbansi ini adalah Spektrofotometer UV-Vis tipe *single*

beam, yang tampilannya dapat dilihat pada Gambar 2.10. Selain itu, informasi mengenai spektrum cahaya tampak dan warna-warna komplementernya dapat ditemukan pada Tabel 2.2.

Tabel 2.2. Spektrum Cahaya Tampak dan Warna Komplementer (Day and Underwood, 2002)

Panjang Gelombang (nm)	Warna yang diserap	Warna Komplementer (Warna yang terlihat)
400-435	Ungu	Kuning-Hiaju
435-480	Biru	Kuning
480-490	Hijau-Biru	Oranye
490-500	Biru-Hijau	Merah
500-560	Hijau	Ungu
560-580	Kuning-Hijau	Ungu
580-595	Kuning	Biru
595-610	Oranye	Hijau-Biru
610-750	Merah	Biru-Hijau



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

2.2 Landasan Teori

Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menghambat dan mencegah kerusakan akibat proses oksidasi. Senyawa ini dapat mengubah sel-sel tubuh menjadi pelindung terhadap radikal bebas yang dapat menyebabkan berbagai penyakit (Pokorny & Yanishlieva, 2001). Antioksidan merupakan zat yang dibutuhkan oleh tubuh untuk mengatasi radikal bebas dan melindungi sel, protein, serta lemak dari kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas.

Antioksidan bekerja dengan menstabilkan radikal bebas, dengan memberikan elektron yang hilang, serta mencegah reaksi berantai yang dapat menyebabkan stres oksidatif (Studiawan and Santosa, 2005).

Fungsi antioksidan untuk menetralkan radikal bebas, sehingga diharapkan penggunaannya dapat mencegah kerusakan pada tubuh dan munculnya penyakit degeneratif. Masyarakat semakin memperhatikan pemilihan antioksidan alami karena efek samping yang ditemukan pada antioksidan sintetik, yang bersifat karsinogenik jika digunakan dalam jangka panjang dan dalam jumlah yang berlebihan (Zuhra *et al.*, 2008).

Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan Pramiastuti & Murti, (2022), ekstrak temu blenyeh telah teridentifikasi melalui skrining fitokimia dan menunjukkan adanya metabolit sekunder seperti flavonoid, saponin, alkaloid, tanin, terpenoid, dan steroid. Menurut Fairuzi, (2016), secara kualitatif spesies curcuma juga memiliki kandungan metabolit sekunder yang serupa termasuk alkaloid, terpenoid, minyak atsiri, flavonoid, steroid, dan tanin. Disisi lain, ekstrak etanol dari rimpang mengandung flavonoid, saponin, quinon, dan triterpenoid (Sinaga and Rina, 2018). Potensi antioksidan dapat dinilai dari kandungan flavonoid dan tanin, yang berperan dalam mendonorkan hydrogen kepada radikal bebas melalui gugus hidroksil yang ada, berfungsi sebagai penangkap radikal bebas (Marianne *et al.*, 2018).

Tanaman temu blenyeh (*Curcuma purpurascens* Blume) merupakan tanaman obat dari keluarga *zingiberaceae* yang telah dikenal dan digunakan secara luas oleh masyarakat Indonesia sebagai bahan obat tradisional. Rimpang temu blenyeh telah digunakan dalam pengobatan tradisional untuk mengobati luka, kudis, gatal, demam, batuk, dan bisul. Selain itu, campuran rimpang

temu blenyeh dengan *Alyxia stellata* juga digunakan sebagai tapal pasca melahirkan. Meskipun demikian, belum ada penelitian ilmiah yang mengkaji potensi bioaktivitas rimpang temu blenyeh (Sinaga and Rina, 2018). Dalam hal pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak temu blenyeh masih menunjukkan hasil yang lemah jika dibandingkan dengan penelitian pada spesies curcuma lainnya.

Dalam pengujian CUPRAC, reagen Cu(II)-neocuproin (Cu(II)-(Nc)₂) digunakan sebagai agen pengoksidasi kromogenik karena reduksi ion Cu(II) dapat diukur. Reagen CUPRAC bersifat selektif karena memiliki nilai potensial reduksi yang rendah. Metode pengukuran kapasitas antioksidan menggunakan CUPRAC memiliki keunggulan dibandingkan metode lain, yaitu reagen ini cukup cepat dalam mengoksidasi tiol sebagai jenis antioksidan. Selain itu, reagen CUPRAC lebih stabil dan lebih mudah diakses dibandingkan reagen kromogenik lainnya, seperti ABTS dan DPPH. Metode ini sederhana dan dapat diterapkan di laboratorium konvensional tanpa memerlukan peralatan yang canggih dan operator yang sangat terlatih. Metode ini juga mampu mengukur antioksidan hidrofilik dan lipofilik, seperti β -Carotene dan α -tokoferol (Maryam et al., 2016).

Prinsip metode β -Carotene Bleaching melibatkan pengurangan warna kuning β -Carotene yang diakibatkan oleh radikal yang muncul dari oksidasi emulsi asam linoleat pada suhu 50°C. Meskipun metode ini telah banyak diterapkan, ia memiliki beberapa keterbatasan, seperti sensitivitas terhadap oksigen dan suhu lingkungan. Kehadiran antioksidan dapat memperlambat laju pemucatan tersebut (Salamah & Nurushoimah, 2014).

Metode *β -Carotene Bleaching* merupakan metode untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan berdasarkan pada kemampuan antioksidan untuk mencegah peluruhan warna jingga karoten akibat oksidasi dalam sistem emulsi beta karoten-asam linoleate. Daya AA (aktivitas antioksidan) metode *β -Carotene Bleaching* digolongkan menjadi tiga tingkat yaitu antioksidan kuat (>70%), intermediate (40-70%), dan lemah (<40%). % AA merupakan presentase aktivitas antioksidan yang mana menunjukkan kemampuan suatu antioksidan dalam menghambat radikal bebas (dalam bentuk %). Persen aktivitas antioksidan menunjukkan banyaknya atom hidrogen dari senyawa antioksidan yang menangkap radikal bebas (Taibah, 2019).

2.3 Hipotesis Penelitian

Ekstrak etanol rimpang dan daun temu blenyeh (*Curcuma purpurascens* Blume) memiliki aktivitas antioksidan yang dapat menghambat radikal bebas dengan mengetahui nilai IC_{50} menggunakan metode CUPRAC dan *β -Carotene Bleaching*.