

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Cengkeh (*Syzygium aromaticum*)

#### 2.1.1 Morfologi Tanaman

Sinonim cengkeh adalah *Cengkik* (Jawa dan Sunda), *Wunga Lawang* (Bali), *Bungeu Lawang* (Gayo), *Sake* (Nias), *Cangkih* (Lampung), *Hungolawa* (Gorontalo), *Canke* (Ujung Pandang), *Cengke* (Bugis), *Sinke* (Flores), *Pualawane* (Ambon), dan *Gomode* (Halmahera) (Suparman *et al.*, 2017a).

Cengkeh merupakan tanaman perdu yang memiliki batang pohon besar dan berkayu keras. Cengkeh mampu bertahan hidup sampai puluhan bahkan ratusan tahun. Tinggi tanaman ini mencapai 20-30 meter. Cengkeh memiliki daun tunggal yang berbentuk bulat telur sampai lancet memanjang, ujung runcing, pangkal meruncing, tepi rata, tulang daunnya menyirip, permukaan atas daun mengkilap, panjang daun 6-13,5 cm dengan lebar 2,5-5 cm, warna daunnya hijau atau cokelat muda saat masih tua dan berubah menjadi hijau tua saat sudah tua (Mustapa, 2020). Tanaman cengkeh memiliki akar tunggang yang berbentuk seperti tombak (*fusimormis*) yang sangat kuat, sehingga mampu menahan pohon tetap tegak hingga puluhan tahun (Muhdhar *et al.*, 2018).

Berikut adalah klasifikasi dari cengkeh :

Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Sub divisi	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Dicotyledoneae</i>
Ordo	: <i>Myrtales</i>
Familia	: <i>Myrtaceae</i>
Genus	: <i>Syzygium</i>
Species	: <i>Syzygium aromaticum</i> (L.) (Mustapa, 2020).

#### 2.1.2 Kandungan Senyawa Kimia Cengkeh

Hasil identifikasi senyawa kimia secara kualitatif menyatakan bahwa ekstrak metanol bunga cengkeh mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, terpenoid, dan fenolik (Suhendar & Fathurrahman, 2019). Komponen fenol yang terkandung dalam cengkeh adalah eugenol (C<sub>18</sub>H<sub>12</sub>O<sub>3</sub>), asetil eugenol, a dan b

kariofelin, eugenia (isomer eugenol), vanillin, dan asam galotanin (Mu'nisa *et al.*, 2012). Eugenol merupakan komponen senyawa kimia yang paling banyak terdapat dalam minyak cengkeh, yaitu sebesar 70-96% (Nirmala, 2020). Eugenol berperan dalam menghambat lipid peroksidasi, oksidasi LDL, dan lipoprotein dengan kepadatan rendah (VLDL) (Mu'nisa *et al.*, 2012). Daun cengkeh mengandung flavonoid, triterpenoid, fenolat, dan tanin sebagai antibakteri. Tak hanya itu, daun cengkeh juga mengandung senyawa *eucalyptol*, kariofilen, *cardinol*, dan *limonene* (Suhendar & Sogandi, 2019).

## 2.2 Polong Cengkeh

Polong merupakan biji cengkeh yang dihasilkan dari buah yang telah selesai mekar atau sudah tua (ranum). Biji cengkeh ini terdiri dari kulit, tali pusar, dan inti biji (Muhdhar *et al.*, 2018). Persyaratan polong cengkeh yang baik berdasarkan Keputusan Menteri Pertanian Republik Indonesia Nomor 315/Kpts/KB.020/10/2015 tentang Pedoman, Sertifikasi, Peredaran dan Pengawasan Benih Tanaman Cengkeh (*Eugenia aromatica* O.K) adalah yang memiliki bobot 0,5 gram sampai dengan 0,8 gram, panjang 1,8 cm sampai 3,5 cm, diameter 0,8 cm sampai 1,39 cm, kadar air minimal 80% dengan daya kecambah 85%. Selain itu, ciri-ciri polong cengkeh yang baik adalah berwarna kuning muda hingga ungu kehitaman, berasal dari buah yang berbiji satu, tidak cacat, tidak berlendir, tidak sakit, dan tidak benjol-benjol akibat cacar daun cengkeh (Wahyuno & Martini, 2015).



Gambar 2.1. Perbandingan cengkeh yang masih muda (kiri) dengan cengkeh yang sudah tua (kanan)

Sumber : Dokumentasi pribadi



Gambar 2.2. Polong cengkeh yang sudah dipisahkan dari kulitnya

Sumber : <https://images.app.goo.gl/RsWRtNrge7qZnfBA9>

### 2.3 Uji Aktivitas Antioksidan

Uji pendahuluan ini dilakukan untuk mengetahui kadar total senyawa antioksidan dalam sampel uji. Prinsip kerja dari uji kadar antioksidan adalah pengukuran aktivitas antioksidan berdasarkan penangkapan radikal DPPH oleh suatu senyawa uji dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis, sehingga diperoleh nilai aktivitas peredaman radikal bebas yang dinyatakan dengan nilai  $IC_{50}$  (*Inhibition Concentration*) (Ridho, 2013a).

#### 2.3.1 Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa kimia yang dapat menyumbangkan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas, sehingga aktivitas radikal bebas terhambat (Ridho, 2013a). Antioksidan mampu menghambat kerusakan sel karena sifatnya sebagai penangkal radikal bebas (Hasyim Ibroham *et al.*, 2020). Salah satu senyawa kimia yang berperan sebagai antioksidan adalah flavonoid. Senyawa ini bekerja dengan cara menangkap ROS (*Reactive Oxygen Species*) secara langsung, mencegah regenerasi ROS, dan secara tidak langsung dapat meningkatkan aktivitas enzim antioksidan seluler (Susiloningrum & Sari, 2021). Senyawa kimia antioksidan lain seperti fenolik berfungsi sebagai anti inflamasi, anti alergi, anti karsinogenik, anti hipertensi, kardioprotektif, anti rematik, dan anti mikroba (Haryati *et al.*, 2022)

#### 2.3.2 DPPH dan Spektrofotometer UV-Vis

DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) merupakan radikal bebas stabil yang digunakan dalam uji antioksidan suatu sampel uji. Gugus kromofor dan auksokrom pada DPPH memberikan absorbansi maksimum pada panjang gelombang 517 nm,

sehingga akan nampak warna ungu. Hasil *positive* akan menunjukkan warna kuning karena elektron tunggal pada DPPH berpasangan dengan *hydrogen* dari antioksidan (Sadeli, 2016). Dalam uji antioksidan, spektrofotometer UV-Vis digunakan untuk mengukur absorbansi dari sampel yang bereaksi dengan DPPH. Data absorbansi ini digunakan untuk menghitung persen inhibisi dari masing-masing konsentrasi sampel (E. Agustina *et al.*, 2020). Sebelum diukur absorbansinya, komponen ekstrak yang dicampur dengan larutan DPPH dilakukan inkubasi selama 30-40 menit (Khairunnisa, 2019). Absorbansi terkuat DPPH adalah pada Panjang gelombang 517 nm (Sadeli, 2016).

### 2.3.3 $IC_{50}$ (Inhibition Concentration)

Nilai  $IC_{50}$  merupakan besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat meredam 50% radikal bebas (E. Agustina *et al.*, 2020). Perubahan warna ungu menjadi kuning pada uji antioksidan menunjukkan adanya penghambatan aktivitas radikal bebas sebanyak 50% (Maningkas *et al.*, 2019). Menurut Molyneux (dalam Sugiyanto *et al.*, 2022), berikut adalah tabel berisikan penggolongan tingkat antioksidan berdasarkan nilai  $IC_{50}$ .

**Tabel 2.1** Tingkat Nilai Antioksidan  $IC_{50}$

Nilai $IC_{50}$	Tingkat Antioksidan
$\leq 50$ ppm	Sangat kuat
50-100 ppm	Kuat
100-150 ppm	Sedang
150-200 ppm	Lemah

## 2.4 Uji Aktivitas Toksisitas

Uji toksisitas merupakan bentuk pengujian yang dilakukan untuk melihat aktivitas farmakologis tanaman yang dapat menimbulkan efek toksik dari tanaman (Rafiqah *et al.*, 2019). Istilah toksisitas dapat digunakan untuk senyawa yang bersifat genotoksik, mutagenic, onkogenik, teratogenic, dan senyawa yang bersifat berbahaya lainnya (Purwanto *et al.*, 2015).

### 2.4.1 BSLT (*Brine Shrimp Lethal Test*)

BSLT merupakan salah satu metode uji toksisitas yang menggunakan hewan uji *Artemia Salina Leach*. Prinsip dari metode BSLT didasarkan pada sifat

toksik dari senyawa aktif tanaman yang mampu membunuh larva udang *Artemia Salina Leach* (Fatimah & Santoso, 2020). Spesies ini memiliki kesamaan dengan mamalia, yaitu pada tipe DNA-dependent RNA polymerase. Ketika DNA-dependent RNA polymerase dihambat, maka tidak akan terjadi pembukaan pilinan DNA menjadi RNA dan tidak ada juga penerjemahan kodon yang ada di RNA, sehingga tidak dapat terbentuk protein baru. Penghentian pembentukan protein akan menyebabkan gangguan sistem metabolisme dan pada akhirnya menyebabkan kematian sel. *Artemia salina Leach* juga berespon terhadap stressor di lingkungan. Metode ini biasa digunakan untuk skrining awal kandungan senyawa aktif dalam ekstrak tanaman (Reskianingsih, 2014). Adapun keuntungan metode BSLT adalah sebagai berikut :

1. Metode penapisan farmakologi awal yang mudah, tidak membutuhkan waktu lama, dan biaya penelitian relatif kecil.
2. Metode yang telah teruji untuk mengamati toksisitas suatu senyawa aktif dalam ekstrak tanaman dengan tingkat kepercayaan sebesar 95%.
3. Sering digunakan untuk identifikasi senyawa antikanker.
4. Metode tahap awal isolasi toksik yang terkandung dalam suatu ekstrak tanaman (Reskianingsih, 2014).

*Artemia* adalah zooplankton yang diklasifikasikan dalam filum *Arthropoda* dan kelas *Crustacea*. Berikut adalah klasifikasi dan strain *Artemia*.

Filum	: <i>Arthropoda</i>
Kelas	: <i>Crustacea</i>
Subkelas	: <i>Branchiophoda</i>
Ordo	: <i>Anostraca</i>
Famili	: <i>Artemiidae</i>
Genus	: <i>Artemia</i>
Spesies	: <i>Artemia fransiscana Kellög</i> (KKP, 2016).

*Artemia salina leach* atau brine shrimp *Artemia* merupakan jenis udang primitif yang hidup sebagai plankton di perairan dengan kadar garam tinggi, yaitu sekitar 15-300 per mil. Suhu air sekitar 25-30°C, kadar oksigen sekitar 3 mg/L, serta pH 7,3-8,4 (Reskianingsih, 2014). Ukuran *Artemia* dewasa rata-rata sekitar 11-13 mm dengan berat 3 mg. Tubuh *Artemia* terbagi menjadi 3 bagian, yaitu kepala,

*thorax*, dan abdomen. Pada bagian kepala terdapat sepasang antennula, antenna, dan mata. *Artemia* memiliki 11 pasang kaki (*thoracopoda*). Pada *Artemia* jantan terdapat penis, sedangkan pada betina terdapat uterus atau kantong telur (KKP, 2016). Lingkungan hidup *Artemia salina Leach* harus memenuhi kriteria dibawah ini, seperti :

1. Suhu terbaik untuk media hidup *Artemia Salina* adalah 25-30°C.
2. Kadar oksigen minimal untuk kista dapat berkembang dengan baik adalah 3 ppm.
3. *Artemia salina Leach* bersifat fototaksis atau menyukai cahaya, sehingga perlu dilakukan penyinaran pada wadah penetasan.
4. Perlu diperhatikan pH air laut agar enzim-enzim yang berperan dalam metamorfosis artemia dapat bekerja secara optimum, yaitu pada pH 8,0-9,0 (Reskianingsih, 2014).
5. Kista *Artemia Salina* L. ditetaskan pada salinitas 15-35 ppt (Widarma, 2022)

#### 2.4.2 $LC_{50}$ (*Lethal Concentration*)

BSLT dilakukan untuk melihat tingkat mortalitas larva udang *Artemia salina Leach* yang disebabkan oleh bahan uji. Hasil yang didapat ini dihitung sebagai  $LC_{50}$  (*Lethal Concentration*), yaitu jumlah konsentrasi senyawa aktif dari bahan uji yang mampu membunuh 50% dari populasi larva udang setelah masa inkubasi 24 jam (Fatimah & Santoso, 2020). Menurut Mayer (dalam Wahyu Ningdyah *et al.*, 2015), berikut adalah tabel penggolongan nilai  $LC_{50}$ .

**Tabel 2.2** Tingkat Nilai Toksisitas  $LC_{50}$

Nilai $LC_{50}$	Tingkat Toksisitas
$\leq 30$ ppm	Sangat toksik
31-1000 ppm	Toksik
$< 1000$ ppm	Tidak toksik

## 2.5 Ekstraksi

Ekstraksi adalah metode pemisahan suatu zat yang didasarkan pada perbedaan kelarutan terhadap dua cairan yang tidak saling larut, seperti air dan pelarut organik (Chairunnisa *et al.*, 2019). Ekstraksi pelarut sering digunakan untuk isolasi zat aktif

suatu tanaman. Metode ini bertujuan untuk menarik zat aktif dalam sampel menggunakan pelarut yang mampu menarik zat aktif dalam jumlah maksimum. Prinsip dari metode ekstraksi pelarut adalah proses distribusi zat terlarut dengan perbandingan tertentu antara dua pelarut yang tidak saling bercampur. Pemilihan pelarut berdasarkan kelarutan dan polaritasnya akan memudahkan pemisahan senyawa aktif tanaman dalam sampel (Susanty & Bachmid, 2016).

### **2.5.1 Maserasi**

Maserasi merupakan ekstraksi dengan cara merendam bahan dengan pelarut yang sesuai dengan senyawa aktif yang akan diisolasi, dimana metode ini dapat dilakukan dengan atau tanpa proses pemanasan (Chairunnisa *et al.*, 2019). Perendaman dilakukan dalam suatu wadah inert yang ditutup rapat pada suhu kamar (Badaring *et al.*, 2020). Pada proses perendaman, dinding sel dan membran sel akan pecah karena perbedaan tekanan antara luar sel dengan dalam sel, sehingga metabolit sekunder dalam sitoplasma akan pecah dan larut dalam pelarut organik tersebut (Chairunnisa *et al.*, 2019). Dalam metode maserasi dilakukan beberapa kali pengocokan atau pengadukan campuran sampel dengan pelarut pada suhu kamar (Susanty & Bachmid, 2016). Keuntungan dari metode maserasi adalah kecilnya resiko kerusakan senyawa-senyawa aktif dalam tanaman yang bersifat termolabil. Hal-hal yang perlu diperhatikan selama proses maserasi adalah waktu maserasi, jumlah pelarut, dan beberapa senyawa mungkin akan sulit diekstraksi pada suhu kamar (Badaring *et al.*, 2020). Semakin lama waktu maserasi, maka semakin lama pelarut kontak dengan bahan alam yang akan diisolasi, sehingga akan memperbanyak jumlah sel yang pecah dan bahan aktif yang larut (Chairunnisa *et al.*, 2019).

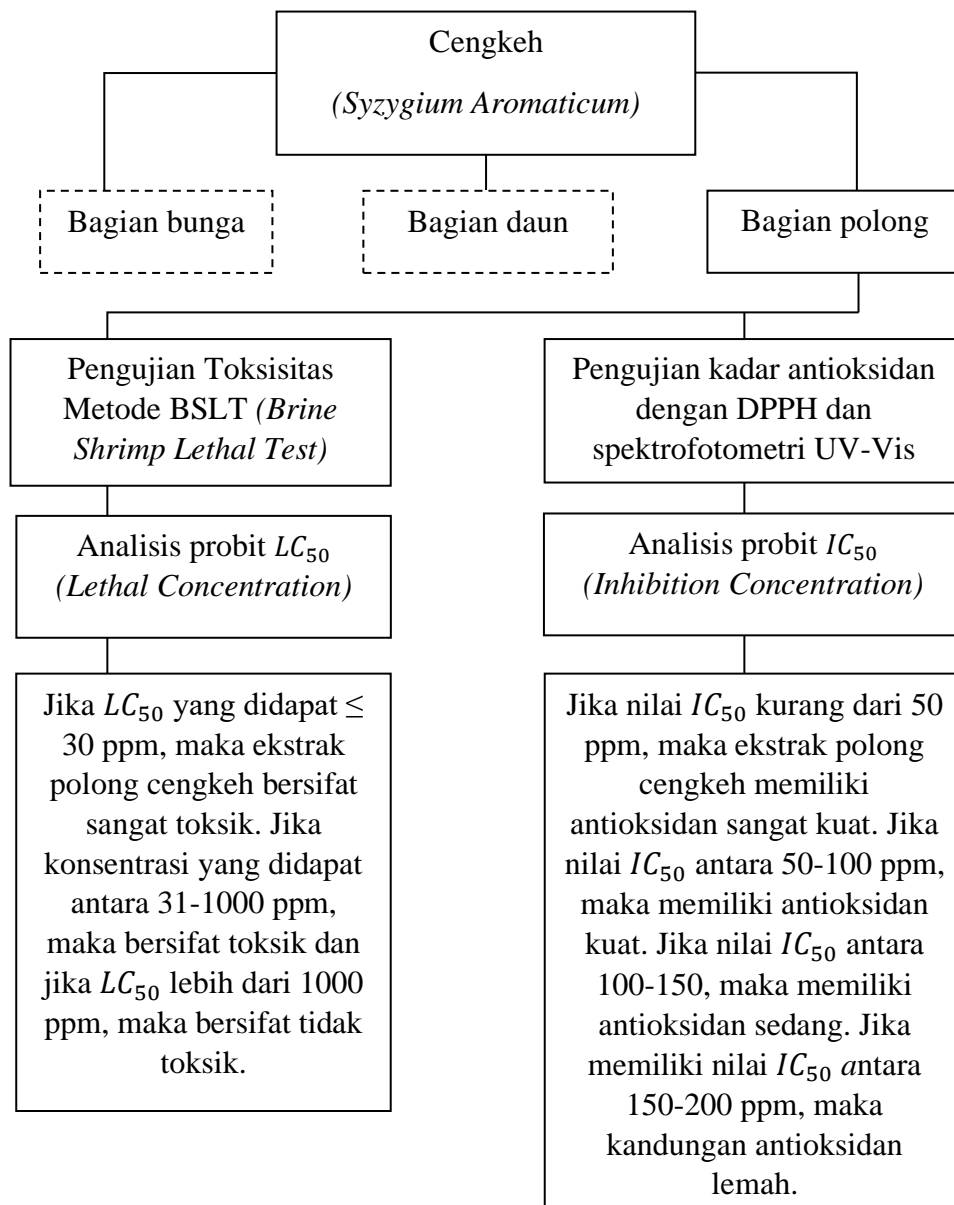
### **2.5.2 Pelarut**

Pelarut adalah zat yang mampu melarutkan zat terlarut dalam suatu larutan. Jumlah pelarut lebih banyak dibanding dengan zat terlarutnya. Pelarut mempengaruhi efektivitas ekstraksi suatu senyawa (Kemit *et al.*, 2016). Beberapa faktor yang harus dipertimbangkan dalam pemilihan pelarut antara lain selektivitas, kemampuan untuk mengekstrak, toksisitas, kemudahan untuk diuapkan, dan harga pelarut (Yolanda Simamora *et al.*, 2021). Kelarutan senyawa dalam pelarut didasarkan pada prinsip *like dissolve like*, yaitu suatu senyawa akan terlarut pada

pelarut yang memiliki sifat sama (polar/non polar). Jika senyawa bersifat polar, maka akan larut pada pelarut polar, begitu sebaliknya (Kemit *et al.*, 2016). Senyawa fenolik yang berpotensi sebagai antioksidan adalah flavonoid (Kumalasari & Musiam, 2019). Ekstraksi flavonoid bisa menggunakan pelarut polar, seperti air, etanol 90%, aseton 90%, dan metanol 90% (Yolanda Simamora *et al.*, 2021). Tanaman obat yang mengandung flavonoid memiliki aktivitas antioksidan, antibakteri, antivirus, antiinflamasi, antihistamin, dan antikanker (Wahyulianingsih *et al.*, 2016).




## 2.6 Kerangka Konsep



Keterangan :

 = Dilakukan peneliti

 = Tidak dilakukan peneliti

## **2.7 Hipotesa**

Ekstrak polong cengkeh memiliki aktivitas antioksidan dan toksisitas yang dibuktikan dengan nilai  $LC_{50}$  dan  $IC_{50}$ .