

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Radikal bebas yang berlebihan didalam tubuh dapat mengakibatkan kerusakan sel, jaringan atau organ sehingga memicu munculnya penyakit degeneratif seperti kanker (Zalukhu, 2016), diabetes mellitus (Shihabi *et al.*, 2002), dan aterosklerosis yang menyebabkan penyakit jantung (Giacco dan Brownlee, 2010).

Resiko suatu penyakit akibat senyawa radikal bebas dapat dikurangi dengan mengkonsumsi antioksidan seperti vitamin, karoten, fenolik, dan flavonoid yang banyak terkandung dalam buah dan sayur (Okawa *et al.*, 2011). Antioksidan merupakan suatu senyawa atau komponen kimia yang dalam jumlah tertentu mampu menghambat atau memperlambat kerusakan akibat proses oksidasi (Sayuti dan Yenrina, 2015). Antioksidan alamiah dapat ditemukan diberbagai bahan alami, salah satu tumbuhan yang dapat digunakan sebagai bahan alamiah antioksidan yaitu tanaman kersen (*Muntingia calabura*).

Tumbuhan kersen(*Muntingia calabura*) umumnya digunakan sebagai tanaman peneduh. Tumbuhan kersen dapat dengan mudah dijumpai diseluruh wilayah Indonesia baik dipedesaan maupun diperkotaan serta mudah ditemukan tumbuh secara liar maupun dibudidayakan. Daun kersen (*Muntingia calabura* Linn) terbukti mengandung senyawa flavonoid, saponin, tannin, dan fenol (Kuntorini *et al.*, 2013; Marjoni *et al.*, 2015). Senyawa flavonoid dan fenol yang

terdapat pada tanaman berperan penting sebagai sumber senyawa bioaktif antioksidan (Lindawati *et al*, 2006). Senyawa fenolik terdiri dari fenol sederhana, asam benzoat, kumarin, tanin, lignin, lignan dan flavonoid (Khoddami, 2013). Kandungan fenolik total terbukti memiliki hubungan dengan nilai aktivitas antioksidan (Yuswi, 2017). Pada penelitian Hasanah *et al* (2017), tentang aktivitas antioksidan pada fraksi ekstrak daun kopi robusta (*Coffea robusta* L.) didapatkan hasil aktivitas antioksidan pada fraksi etil asetat lebih baik dibanding fraksi n- heksan dan fraksi air.

Senyawa antioksidan yang terdapat dalam daun kersen diperoleh dengan metode ekstraksi maserasi menggunakan pelarut etanol. Pemilihan etanol sebagai pelarut karena senyawa fenol memiliki cincin aromatik yang dapat mengikat gugus hidroksil sehingga menyebabkan senyawa fenolik lebih mudah larut pada pelarut polar seperti etanol (Lumempouwet *al.*, 2012). Fraksinasi pada suatu ekstrak dilakukan untuk memisahkan suatu atau beberapa senyawa yang ada berdasarkan polaritasnya. Fraksi-fraksi yang diperoleh mungkin menunjukkan sifat kimia dan fisika senyawa yang lebih khas daripada ekstrak awalnya (Sarker *et al.*, 2006).

Penelitian aktivitas antioksidan dan kandungan fenolik pada berbagai fraksi ekstrak daun kersen belum pernah diteliti, sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan kandungan fenolik pada berbagai fraksi ekstrak daun kersen. Berdasarkan latar belakang tersebut, maka peneliti tertarik melakukan penelitian yang bertujuan untuk menguji aktivitas

antioksidan dan menetapkan kadar fenolik total fraksi n-heksan, etil asetat, dan air ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura* L.).

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang diatas, maka perumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Berapakah kadar fenolik total fraksi n-heksan, etil asetat, dan air ekstrak etanol daun kersen ?
2. Berapakah nilai IC_{50} aktivitas antioksidan dari fraksi n-heksan, etil asetat, dan air ekstrak etanol daun kersen ?
3. Adakah korelasi antara kandungan fenolik total dalam fraksi n-heksan, etil asetat, dan air ekstrak etanol daun kersen terhadap aktivitas antioksidan ?

C. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui kadar fenolik total fraksi n-heksan, etil asetat, dan air ekstrak etanol daun kersen.
2. Mengetahui nilai nilai IC_{50} aktivitas antioksidan dari fraksi n-heksan, etil asetat, dan air ekstrak etanol daun kersen.
3. Mengetahui korelasi antara kandungan fenolik total dalam fraksi n-heksan, etil asetat, dan air ekstrak etanol daun kersen terhadap aktivitas antioksidan.

D. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan tambahan ilmu pengetahuan mengenai kandungan fenolik dan aktivitas antioksidan dari fraksi n-heksan, etil asetat, dan air ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura* L.), sehingga dapat menjadi acuan pada penelitian selanjutnya dan dapat memberikan informasi kepada masyarakat tentang potensi daun kersen sebagai sumber antioksidan alami.

E. Tinjauan Pustaka

1. Kersen (*Muntingia calabura* L.)

A. Klasifikasi

Kingdom	: Plantae (tumbuhan)
Sub kingdom	: Tracheobionta (berpembuluh)
Super divisi	: Spermatophyta (berbiji)
Divisi	: Magnoliophyta (berbunga)
Kelas	: Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
Sub kelas	: Dilleniidae
Bangsa	: Malvales (<i>Columniferae</i>)
Suku	: Elaeocarpaceae
Marga	: <i>Muntingia</i>
Jenis	: <i>Muntingia calabura</i> L. (Cronquist, 1981).

B. Morfologi

Kersen merupakan tanaman yang memiliki ketinggian mencapai 10 meter, memiliki buah yang kecil dan manis. Selain buah, tanaman kersen juga memiliki bagian lain seperti daun, batang, dan bunga. Batang tumbuhan kersen berkayu, tegak, bulat, dan memiliki percabangan simpodial. Daun kersen dapat dilihat pada gambar 1 sebagai berikut :



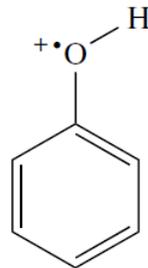
Gambar 1. Daun kersen (dokumen pribadi)

Tanaman kersen secara empiris telah lama dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai tanaman obat tradisional. Di Peru daun kersen digunakan sebagai obat sakit kepala dan anti radang. Daun kersen mengandung senyawa flavonoid, saponin, tannin dan fenol sehingga dapat digunakan sebagai antioksidan (Kuntorini *et al.*, 2013; Marjoni *et al.*, 2015).

2. Senyawa Fenolik

Senyawa fenolik merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder terbesar yang terkandung ditanaman. Didefinisikan sebagai senyawa yang setidaknya memiliki satu gugus hidroksi yang melekat pada gugus aromatik atau cincin benzennya. Senyawa fenolik termasuk kedalam alkohol aromatik karena gugus

hidroksinya selalu melekat pada benzen (Pangelly, 2006). Senyawa fenolik adalah senyawa kimia yang sering ditemukan di semua tanaman. Senyawa fenolik terdiri dari fenol sederhana, asam benzoat, kumarin, tanin, lignin, lignan dan flavonoid (Khoddami, 2013). Fenol merupakan radikal yang relatif stabil dapat bekerja sebagai penangkap radikal yang sesuai dan juga bisa digunakan sebagai inhibitor oksidasi (Rappoport, 2003). Salah satu senyawa fenolik adalah senyawa fenol, struktur dasar senyawa fenol dapat dilihat pada gambar 2:



Gambar 2. Struktur dasar senyawa fenol (Rappoport, 2003)

3. Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan salah satu bentuk senyawa oksigen reaktif, yang secara umum diketahui sebagai suatu senyawa baik atom ataupun molekul (kumpulan atom) yang memiliki elektron tidak berpasangan (*unpaired electron*). Sumber radikal bebas berasal dari dalam tubuh kita sendiri (endogen) misalnya akibat metabolisme sel didalam tubuh dan bisa berasal dari luar tubuh (eksogen) misalnya akibat terpapar polutan. Reaktivitas radikal bebas merupakan upaya mencari pasangan elektron. Hasil dari pergerakan radikal bebas akan terbentuk radikal bebas baru yang berasal dari atom atau molekul yang elektronnya diambil untuk berpasangan dengan radikal sebelumnya (Winarsi, 2007).

4. Ekstraksi dan Ekstrak

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut, sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Proses penarikan senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan. Simplisia yang diekstrak mengandung senyawa aktif yang dapat larut dan senyawa yang tidak dapat larut seperti serat, karbohidrat, protein dan lain-lain. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan ke dalam golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid dan lain-lain. Hasil dari proses ekstraksi adalah sediaan kental yang disebut ekstrak (Depkes RI, 2000).

5. Fraksinasi (Ekstraksi Cair - Cair)

Fraksinasi atau ekstraksi cairan-cair merupakan suatu teknik dimana suatu larutan pertama (biasanya dalam air) dibuat bersentuhan dengan suatu pelarut kedua (biasanya organik) yang pada hakekatnya tak tercampurkan dengan yang disebut larutan pertama, dan menimbulkan perpindahan satu atau lebih zat terlarut (*solute*) kedalam pelarut yang kedua. Pemisahan zat menggunakan proses ekstraksi cair-cair bersifat sederhana, bersih, cepat, dan mudah. Pemisahan zat dapat dilakukan dengan mengocok-ngocok larutan dalam corong pemisah selama beberapa menit. Teknik pemisahan ini dapat dilakukan untuk bahan-bahan dengan tingkat jumlah sedikit maupun jumlah banyak (Basset *et al.*, 1994).

6. Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang mampu mendonasikan satu atau lebih elektron kepada senyawa prooksidan, kemudian mengubah senyawa oksidan menjadi senyawa yang lebih stabil (Winarsi, 2005). Berdasarkan mekanisme kerjanya antioksidan dapat dikelompokkan menjadi 3 kelompok (Winarsi, 2005), yaitu :

- a. Antioksidan primer (antioksidan endogen atau antioksidan enzimatis).
Antioksidan primer bekerja menekan atau menghambat radikal bebas dengan cara memutus reaksi berantai dan mengubahnya menjadi produk lebih stabil. Reaksi ini disebut sebagai *chain-breaking-antioxidant*. Contoh antioksidan primer adalah enzim superoksida dismutase, katalase, dan glutathione peroksidase.
- b. Antioksidan sekunder (antioksidan eksogen atau antioksidan non enzimatis).
Antioksidan sekunder bekerja dengan cara menangkap radikal bebas (*scavange free radical*). Kemudian mencegah amplifikasi radikal. Contoh antioksidan sekunder adalah vitamin E, vitamin C, dan β -karoten.
- c. Antioksidan tersier merupakan antioksidan yang bekerja dengan cara memperbaiki perubahan biomolekul yang disebabkan oleh radikal bebas. Contoh antioksidan tersier adalah enzim DNA-repair dan metionin sulfoksida reduktase.

7. Spektrofotometri UV-Visible

Spektrofotometri serapan merupakan metode pengukuran suatu interaksi antara radiasi elektromagnetik dengan molekul atau atom dari suatu zat kimia.

Teknik yang sering digunakan dalam analisis farmasi adalah spektroskopi serapan ultraviolet, spektroskopi serapan cahaya tampak (*visible*), inframerah, dan serapan atom (Depkes RI, 2008). Spektrofotometri serapan digunakan untuk mengukur serapan radiasi elektromagnetik pada panjang gelombang tertentu yang sempit, mendekati monokromatik, yang mendekati zat. Pengukuran serapan dapat dilakukan pada daerah ultraviolet yaitu pada panjang gelombang 190 nm – 380 nm atau pada daerah cahaya tampak (*visible*) yaitu pada panjang gelombang 380 nm - 780 nm. Spektrum serapan adalah hubungan antara serapan atau fungsi serapan dengan panjang gelombang atau atau fungsi panjang gelombang, yang biasanya digambarkan dengan bentuk grafik (Depkes RI, 1979). Daya dari suatu berkas radiasi akan berkurang sehubungan dengan jarak yang ditemuh melalui medium menyerap. Daya tersebut akan berkurang sehubungan dengan kadar molekul atau ion yang terserap dalam medium. Faktor daya dan medium menentukan proporsi dari kejadian total energi yang timbul. Penurunan daya radiasi monokromatis yang melalui medium penyerap yang homogen dinyatakan secara kuantitatif oleh hukum Lambert-Beer adalah $\log (1/T) = A = abc$; istilah tersebut didefinisikan sebagai berikut (Depkes RI, 2008) :

A= Serapan , T= % Transmisi, a= Serapan Jenis, b= tebal sel (cm), c= konsentrasi

8. DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazin*)

Pengujian peredaman radikal bebas DPPH merupakan uji untuk menentukan aktivitas antioksidan dalam sampel yang akan diujikan, dengan melihat kemampuannya dalam menangkal radikal bebas DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazin*). DPPH merupakan suatu senyawa organik yang mengandung

nitrogen tidak stabil dengan absorbansi kuat pada panjang gelombang maksimum 517 nm dan berwarna ungu gelap (Prakash, 2001).

Prinsip uji DPPH adalah adanya donasi atom hidrogen dari substansi yang diujikan kepada radikal bebas DPPH (*2,2-difenil-1-pikrilhidrazil*) sehingga menjadi senyawa non radikal DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazin*) yang akan ditunjukkan dengan perubahan warna (Molyneux, 2004). Setelah bereaksi dengan senyawa antioksidan larutan radikal bebas DPPH berwarna ungu akan tereduksi dan warnanya akan berubah menjadi kuning seiring dengan intensitas antioksidan yang diterimanya (Molyneux, 2004).

9. IC₅₀ (*Inhibition Concentration*)

Pengukuran aktivitas antioksidan secara kuantitatif dengan metode DPPH dinyatakan dalam nilai IC₅₀ (*inhibition concentration*). Besarnya aktivitas antioksidan ditandai dengan nilai IC₅₀, yaitu konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50% aktivitas radikal bebas DPPH (Molyneux, 2004). Semakin kecil nilai IC₅₀ maka semakin besar aktivitas antioksidannya (Yudiatiet *al.*, 2011). Aktivitas antioksidan dikatakan lemah bila nilai IC₅₀ antara 151-200 µg/mL, tergolong sedang bila nilai IC₅₀ antara 100-150 µg/mL, kuat bila nilai IC₅₀ antara 50-100 µg/mL, dan dikatakan sangat kuat bila kurang dari 50 µg/mL (Blois, 1958)

F. Landasan Teori

Daun kersen mengandung senyawa flavonoid, saponin, tannin, dan fenolik memiliki sifat sebagai antioksidan (Kuntorini *et al.*, 2013; Marjoni *et al.*, 2015). Tumbuhan yang mengandung senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid dan fenol dapat berguna sebagai penangkap radikal bebas, yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan (Nishantini *et al.*, 2012). Kandungan fenolik total terbukti memiliki hubungan dengan nilai aktivitas antioksidan (Yuswi, 2017). Fraksinasi bertujuan untuk menarik senyawa yang lebih selektif berdasarkan tingkat kepolarannya, sehingga didapatkan senyawa aktif yang lebih spesifik (Wardhani *et al.*, 2014).

Hasil penelitian Kuntorini *et al* (2013), menyebutkan aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun kersen tua ($IC_{50} = 18,214$ ppm) lebih kuat dibandingkan daun kersen muda ($IC_{50} = 21,786$ ppm), penelitian Marjoni *et al* (2015), diketahui bahwa ekstrak air daun kersen memiliki aktivitas antioksidan sebesar 196,80 $\mu\text{g/mL}$ dan fenolik total sebesar 2,86 mg/50 gram ekstrak dan pada penelitian Hasanah *et al* (2017), aktivitas antioksidan pada fraksi ekstrak daun kopi robusta didapatkan nilai aktivitas antioksidan berturut-turut dari yang tertinggi adalah fraksi etil asetat ($IC_{50} = 38,32$ ppm), fraksi n-heksan ($IC_{50} = 37,07$ ppm), dan fraksi air ($IC_{50} = 73,62$ ppm).

G. Hipotesis

1. Fraksi n-heksan, etil asetat, dan air ekstrak etanol daun kersen memiliki kandungan fenolik.
2. Fraksi n-heksan, etil asetat, dan air ekstrak etanol daun kersen memiliki aktivitas antioksidan.
3. Terdapat korelasi antara kandungan fenolik fraksi n-heksan, etil asetat, dan air ekstrak etanol daun kersen terhadap aktivitas antioksidan.

