

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Tubuh manusia akan mengalami penurunan fungsi sel, jaringan, dan organ seiring dengan bertambahnya usia, sehingga dapat menimbulkan penyakit degeneratif seperti penyakit kardiovaskuler, stroke, dan kanker. Salah satu penyebab penyakit degeneratif yaitu adanya radikal bebas yang berlebih di dalam tubuh sehingga akan menyebabkan kerusakan di jaringan tubuh (Winarsi, 2007). Radikal bebas merupakan molekul yang tidak stabil dan sangat reaktif karena mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbit terluarnya. Dalam mencapai kestabilan, radikal bebas akan bereaksi dengan molekul disekitarnya untuk memperoleh pasangan elektron. Reaksi ini akan berlangsung terus menerus dalam tubuh (Hernani dan Raharjo, 2005). Antioksidan adalah substansi yang diperlukan untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas. Antioksidan bekerja dengan cara melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas yang dapat menimbulkan stres oksidatif (Yuliarti, 2008).

Tumbuhan kersen mudah ditemui diseluruh wilayah di Indonesia. Secara empiris daun kersen digunakan untuk mengurangi radang juga mampu meredakan sakit kepala (Danugroho dan Widyaningrum, 2014). Zakaria (2007) melaporkan bahwa kersen yang mengandung flavonoid mempunyai khasiat salah satunya sebagai antioksidan. Penelitian terdahulu memberikan hasil bahwa ekstrak

metanol daun kersen tua memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kuat dibandingkan dengan daun kersen muda (Kuntorini dkk., 2013).

Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder dan termasuk komponen fenolik. Golongan senyawa flavonoid dapat tersari ke dalam beberapa jenis pelarut. Kandungan flavonoid dari buah ranti hitam mampu terlarut dalam ekstrak n-heksan serta ekstrak etil asetat (Simorangkir dkk., 2013). Flavonoid glikosida dan antosianin dapat ditemukan dalam ekstrak etanol kulit buah *Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) (Liu *et al.*, 2012). Flavonoid jenis flavanon atau dihidroflavonol dapat ditemukan pada ekstrak etil asetat buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) (Nuari dkk., 2017). Menurut Asih (2009), ekstrak n-heksan dari biji kedelai (*Glycine max*) mengandung senyawa flavonoid jenis isoflavon.

Terdapat penelitian flavonoid berguna sebagai penangkap radikal bebas, yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan (Nishanthini *and* Mohan, 2012). Penelitian Ku *et al.* (2014) menyimpulkan bahwa berbagai jenis flavonoid, terutama jenis antosianin dapat meningkatkan aktivitas antioksidan. Telah dibuktikan adanya korelasi aktivitas antioksidan terhadap flavonoid total pada berbagai kepolaran pelarut (metanol, etil asetat, kloroform, dan n-heksan) dari daun semanggi merah (Esmaeili *et al.*, 2015).

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka perlu dilakukan penelitian untuk menguji aktivitas antioksidan dan penetapan kadar flavonoid total ekstrak etanol, etil asetat, dan n-heksan daun kersen (*Muntingia calabura* L.).

B. Perumusan Masalah

1. Berapakah kadar flavonoid total ekstrak etanol, etil asetat, dan n-heksan daun kersen?
2. Berapakah aktivitas antioksidan dengan metode DPPH pada ekstrak etanol, etil asetat, dan n-heksan daun kersen yang dinyatakan dengan nilai IC_{50} ?
3. Adakah korelasi antara kandungan flavonoid ekstrak etanol, etil asetat, dan n-heksan daun kersen terhadap aktivitas antioksidan?

C. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui kadar flavonoid total ekstrak etanol, etil asetat, dan n-heksan daun kersen
2. Mengetahui aktivitas antioksidan dengan metode DPPH pada ekstrak etanol, etil asetat, dan n-heksan daun kersen yang dinyatakan dengan nilai IC_{50}
3. Mengetahui ada atau tidaknya korelasi antara kadar flavonoid total dalam ekstrak etanol, etil asetat, dan n-heksan daun kersen terhadap aktivitas antioksidan

D. Manfaat Penelitian

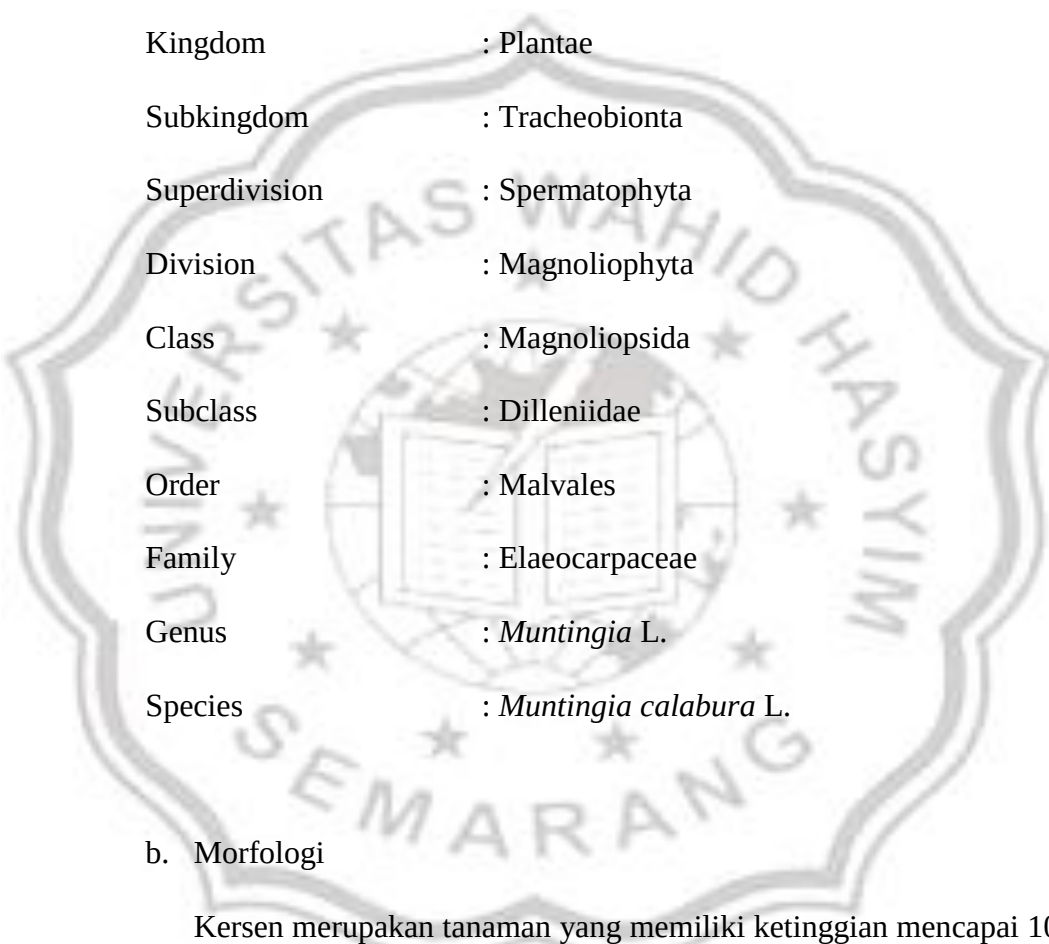
Penelitian ini diharapkan mampu meningkatkan pemanfaatan tanaman kersen yang mudah ditemukan di berbagai wilayah di Indonesia.

E. Tinjauan Pustaka

1. Kersen (*Muntingia calabura* L.)

a. Klasifikasi

Klasifikasi tanaman kersen menurut United States Department of Agriculture (2010) sebagai berikut:



Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Superdivision	: Spermatophyta
Division	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopsida
Subclass	: Dilleniidae
Order	: Malvales
Family	: Elaeocarpaceae
Genus	: <i>Muntingia</i> L.
Species	: <i>Muntingia calabura</i> L.

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, seperti yang dapat dilihat pada

Gambar 1, mengandung flavonoid, tanin, glikosida, saponin, steroid, dan minyak esensial (Prasetyo dan Sasongko, 2014).



Gambar 1. Daun Kersen (Dokumen Pribadi)

Tanaman kersen memiliki percabangan yang mendatar, menggantung ke arah ujung, berbulu halus, daunnya tunggal, berbentuk bulat telur sampai berbentuk lanset, pangkal lembaran daun yang nyata tidak simetris, dengan ukuran (4-14 cm) x (1-4 cm), tepi daun bergerigi. Bunga tumbuhan kersen terletak pada satu berkas yang letaknya supra-aksilar dari daun bersifat hemaprodit. Buahnya mempunyai tipe buah buni, berwarna merah kusam bila masak, dengan diameter 15 mm, berisi beberapa biji yang kecil, terkubur dalam daging buah yang lembut (Cabi, 2017).

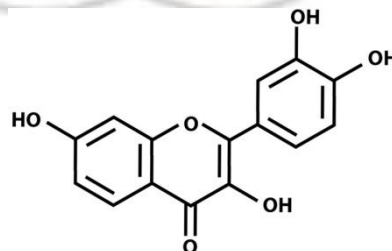
c. Kandungan Kimia Daun Kersen

Daun kersen memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder antara lain: flavonoid, tanin, triterpenoid, saponin, dan polifenol yang menunjukkan aktivitas antioksidan dan sebagai antinociceptive (Zakaria, 2014).

2. Flavonoid

Flavonoid terdapat dalam tumbuhan, terikat pada gula sebagai glikosida dan lainnya aglikon. Flavonoid dapat berfungsi sebagai antimikrobia, antivirus, antioksidan, antihipertensi, merangsang pembentukan estrogen, dan mengobati gangguan fungsi hati (Binawati dan Amilah, 2013).

Golongan flavonoid mempunyai ciri adanya cincin piran yang menghubungkan rantai tiga karbon dengan salah satu dari cincin benzena. Ikatan flavonoid dengan gula menyebabkan banyaknya bentuk kombinasi yang dapat terjadi di dalam tumbuhan, sehingga flavonoid pada tumbuhan jarang ditemukan dalam keadaan tunggal. Flavonoid, seperti yang terlihat pada Gambar 2, mempunyai aktivitas antibakteri karena flavonoid mempunyai kemampuan berinteraksi dengan DNA bakteri dan menghambat fungsi membran sitoplasma bakteri dengan mengurangi fluiditas dari membran dalam dan membran luar sel bakteri. Ion hidroksil secara kimia menyebabkan perubahan komponen organik dan transport nutrisi, sehingga menimbulkan efek toksis terhadap sel bakteri (Sudirman, 2014).



Gambar 2. Struktur Umum Flavonoid (Markham, 1988)

3. Antioksidan dan Radikal Bebas

Antioksidan merupakan substansi yang dapat menetralkan radikal bebas dan mencegah terjadinya kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas. Antioksidan mampu menetralkan radikal bebas karena senyawa ini memiliki struktur molekul yang dapat memberikan elektron kepada molekul radikal bebas dan dapat memutus reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas yang dapat menimbulkan stres oksidatif (Halliwell *and* Gutteridge, 2010).

Antioksidan dapat diperoleh melalui dua cara, yaitu dari dalam tubuh (endogen) dan dari luar tubuh (eksogen). Antioksidan eksogen dapat diperoleh dengan mengonsumsi makanan dan minuman yang mengandung vitamin C dan E, β -karoten maupun antioksidan sintetik seperti *butylated hydroxyl anisol* (BHA), *butylated hydroxyl toluene* (BHT), sedangkan contoh antioksidan endogen adalah enzim superoksida dismutase (SOD), *glutathione peroxidase* (GSH.Px), dan katalase, terdapat di dalam darah yang mengandung zat besi dan seruloplasmin (Halliwell *and* Gutteridge, 2010).

Berdasarkan fungsinya antioksidan dibagi menjadi tiga, yaitu:

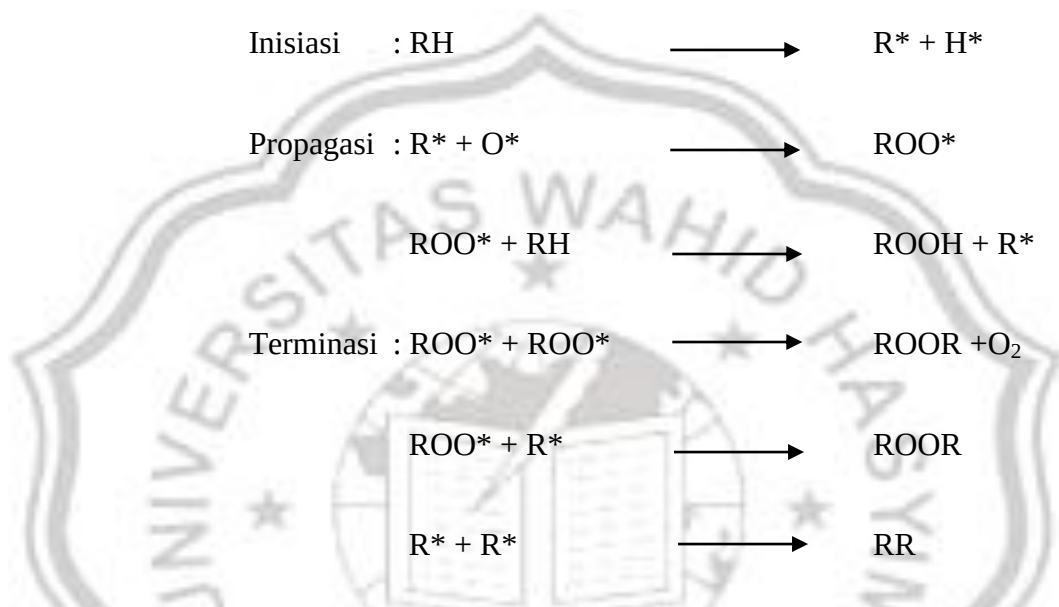
- a. Antioksidan primer, berperan menghentikan reaksi berantai dan berfungsi sebagai donor elektron pada radikal bebas sehingga berdampak terhadap pembentukan produk yang lebih stabil. Antioksidan primer mampu memutus tahap inisiasi dengan bereaksi dengan radikal bebas atau menghambat reaksi

propagasi dengan cara bereaksi dengan radikal peroksi atau alkoksida. Contoh senyawa polifenol, asam askorbat, asam galat, BHT, BHA, TBHQ, PG, dan tokoferol.

- b. Antioksidan sekunder menangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya reaksi berantai dengan cara berperan dalam mengikat atau mengkhelat ion logam, sebagai penangkal oksigen, mengubah hidroperoksida menjadi molekul non radikal, menyerap radiasi UV, dan menginaktifkan oksigen singlet. Contohnya adalah vitamin C dan E.
- c. Antioksidan tersier, berfungsi memperbaiki kerusakan sel dan jaringan yang disebabkan oleh radikal bebas. Contohnya adalah enzim DNA-*repair* dan metionin sulfoksida reduktase (Winarsi, 2007).

Radikal bebas merupakan molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbit paling luar, termasuk atom hidrogen, logam-logam transisi, dan molekul oksigen. Elektron tidak berpasangan menyebabkan radikal bebas menjadi sangat aktif. Sumber radikal bebas bisa berasal dari dalam tubuh (internal) dan dari luar tubuh (eksternal). Radikal bebas dari tubuh mencakup superoksida, hidroksil, peroksil, hidrogen peroksida, singlet oksigen, oksida nitrit, dan peroksinitrit. Radikal bebas dari luar tubuh yaitu polusi, radiasi, sinar UV, obat, pestisida, limbah industri, dan ozon. Kerusakan jaringan terjadi akibat gangguan oksidatif yang disebabkan

oleh radikal bebas asam lemak atau yang biasa disebut peroksidasi lipid. Selain peroksidasi lipid, kerusakan sel juga disebabkan oleh peroksidasi protein dan kerusakan DNA. Menurut Tranggono dkk. (1990) mekanisme oksidasi lipida seperti terlihat pada Gambar 3 berikut:



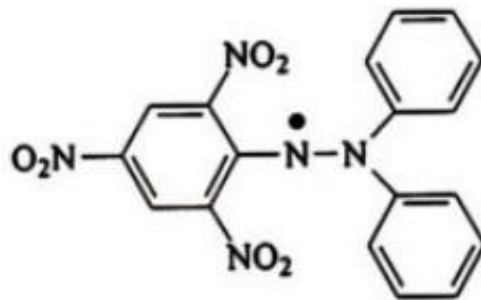
Gambar 3. Mekanisme Oksidasi Lipida (Tranggono dkk., 1990)

Proses autooksidasi lipida melalui tiga tahap reaksi yaitu inisiasi, propagasi, dan terminasi. Inisiasi diawali dengan terlepasnya atom hidrogen dari molekul asam lemak sehingga terbentuk radikal bebas alkil. Inisiasi dikatalis oleh adanya cahaya, panas, ion logam. Pada tahap propagasi, radikal bebas alkil yang terbentuk pada tahap inisiasi bereaksi dengan oksigen di atmosfer membentuk radikal bebas peroksi. Radikal bebas peroksi yang terbentuk bereaksi dengan atom hidrogen yang terlepas dari asam lemak tidak jenuh yang lain membentuk hidroperoksida (H₂O₂) dan radikal bebas yang baru.

Radikal bebas alkil yang baru akan bereaksi dengan oksigen atmosfer membentuk radikal bebas peroksi. Pada tahap terminasi, terjadi penggabungan radikal – radikal bebas membentuk produk non radikal yang stabil (Shahidi dan Wanasundara, 2002).

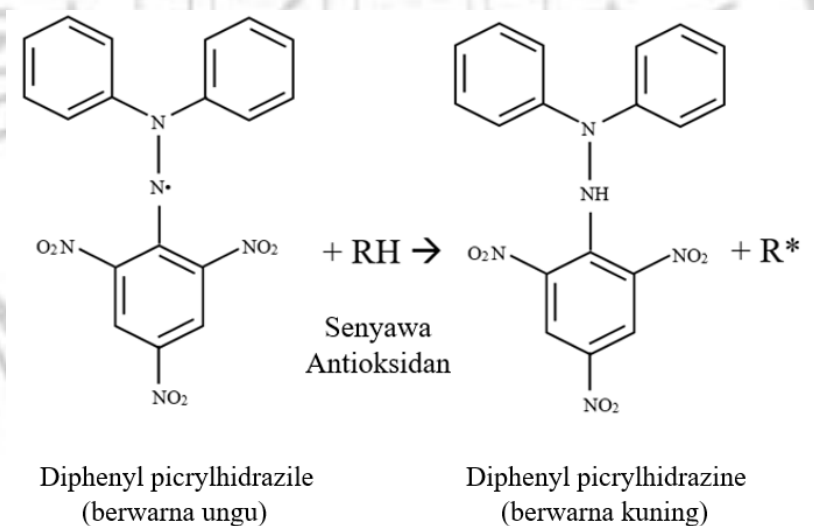
4. DPPH (1.1-difenil-2-pikrilhidrazil)

Struktur kimia DPPH (1.1-difenil-2-pikrilhidrazil), seperti yang terlihat pada Gambar 4, merupakan suatu radikal sintetik yang stabil, larut dalam pelarut polar seperti metanol dan etanol, serta dapat diukur intensitasnya pada panjang gelombang 500-525 nm. DPPH dapat bereaksi dengan senyawa yang dapat mendonorkan atom hidrogen yang berguna untuk pengujian aktivitas antioksidan dari suatu ekstrak. Senyawa DPPH bereaksi dengan senyawa antioksidan untuk mendapatkan pasangan elektron. Senyawa penangkap radikal akan mereduksi DPPH yang dapat diamati dengan perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning ketika elektron ganjil dari radikal DPPH telah berpasangan dengan hidrogen dari senyawa penangkap radikal bebas (Molyneux, 2004).



Gambar 4. Struktur Kimia DPPH (Molyneux, 2004)

Prinsip reaksi dari metode ini adalah penangkapan atom hidrogen dari antioksidan oleh radikal bebas. Mekanisme yang terjadi adalah reaksi penangkapan atom hidrogen dari antioksidan oleh radikal bebas DPPH. Senyawa DPPH bereaksi dengan senyawa antioksidan untuk mendapatkan pasangan elektron. Senyawa penangkap radikal akan mereduksi DPPH yang dapat diamati dengan perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning ketika elektron ganjil dari radikal DPPH telah berpasangan dengan hidrogen dari senyawa penangkap radikal bebas (Prakash, 2001). Mekanisme reaksi DPPH dengan senyawa antioksidan dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Reduksi DPPH dari senyawa antioksidan (Prakash, 2001)

5. *Inhibition Concentration*₅₀ (*IC*₅₀)

Konsentrasi efektif zat dalam sampel yang dapat menghambat 50% absorbansi DPPH disebut sebagai *IC*₅₀ yang menjadi parameter untuk menginterpretasikan data adanya aktivitas antioksidan. Suatu senyawa dikatakan memiliki aktivitas antioksidan yang kuat jika nilai *IC*₅₀ kurang dari 50 ppm. Nilai *IC*₅₀ diperoleh menggunakan persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi sampel (senyawa uji) dengan simbol X terhadap aktivitas penangkapan radikal rata-rata dengan simbol Y dari seri replikasi pengukuran. Apabila nilai persen penghambatan sesuai pada setiap konsentrasi sampel pengujian yang dihitung, maka nilai penghambatan dapat diplot pada grafik untuk memperoleh nilai *IC*₅₀. Daya antioksidan semakin kuat bila nilai *IC*₅₀ semakin kecil (Molyneux, 2004). Klasifikasi aktivitas antioksidan seperti pada Tabel I.

Tabel I. Klasifikasi Aktivitas Antioksidan (Blois, 2008)

No	Nilai <i>IC</i> ₅₀	Aktivitas Antioksidan
1	< 50 ppm	Sangat kuat
2	50-100 ppm	Kuat
3	100-150 ppm	Sedang
4	151-200 ppm	Lemah

F. Landasan Teori

Daun kersen mengandung berbagai senyawa bioaktif yaitu senyawa flavonoid, saponin, triterpen, steroid dan tannin (Zakaria, 2014). Menurut penelitian Liu *et al.* (2012), ekstrak etanol dari kulit buah *Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) mengandung senyawa flavonoid glukosida dan kaya akan antosianin, sedangkan penelitian Nuari dkk. (2017) menyebutkan bahwa terdapat kandungan flavonoid jenis flavanon atau dihidroflavonol pada ekstrak etil asetat buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*), dan penelitian Asih (2009) mengatakan bahwa ekstrak n-heksan dari biji kedelai (*Glycine max*) mengandung senyawa flavonoid jenis isoflavan.

Berdasarkan penelitian sebelumnya, senyawa flavonoid golongan dihidroflavonol dengan gugus ortohidroksi dapat menghambat reaksi peroksidasi lemak plasma darah pada tikus wistar dan memiliki aktivitas antioksidan (Dewi *et al.*, 2014). Penelitian Ku *et al.* (2014) pada tanaman jagung di Korea menyimpulkan bahwa berbagai jenis flavonoid, terutama jenis antosianin dapat meningkatkan aktivitas antioksidan. Senyawa flavonoid terprenilasi dari ekstrak daun dadap merah (*Erythrina crista-galli*) memiliki aktivitas antioksidan yang ditunjukkan dengan nilai IC₅₀ sebesar $99 \pm 5,46$ ppm dengan metode DPPH (Andriyani, 2012).

Penelitian terdahulu memberikan hasil bahwa ekstrak metanol daun kersen tua memiliki aktivitas antioksidan sebesar 18,214 µg/mL yang mana lebih kuat dibandingkan dengan daun kersen muda sebesar 21,786 µg/mL, hal ini dikarenakan pada daun kersen tua mengandung trikoma glanduler dengan jumlah

yang lebih banyak daripada daun kersen muda, sehingga dapat menyimpan lebih banyak senyawa metabolit sekunder (Kuntorini dkk., 2013).

Menurut penelitian Fidrianny *et al.* (2014), ada korelasi antara kandungan flavonoid berbagai kepolaran ekstrak daun labu (*Cucurbitaceae leaves*) terhadap aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan juga berkorelasi secara signifikan terhadap flavonoid total pada berbagai kepolaran pelarut (metanol, etil asetat, kloroform, dan n-heksan) dari daun semanggi merah (Esmaeili *et al.*, 2015).

G. Hipotesis

1. Ekstrak etanol, etil asetat, dan n-heksan daun kersen memiliki kandungan flavonoid.
2. Ekstrak etanol, etil asetat, dan n-heksan daun kersen memiliki aktivitas antioksidan.
3. Terdapat korelasi antara kandungan flavonoid ekstrak etanol, etil asetat, dan n-heksan daun kersen terhadap aktivitas antioksidan.