

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Kubis bunga (*Brassica oleracea var. botrytis* L.) mengandung flavonoid total sebesar 12 % b/b ER (Nurhaeni dkk., 2014). Flavonoid merupakan senyawa fenol yang memiliki sistem aromatik yang terkonjugasi (Harborne, 1996). Sistem aromatik terkonjugasi mudah rusak pada suhu tinggi. Flavonoid mengalami penurunan kadar oleh suhu dan lama penyimpanan. Harga $t_{1/2}$ flavonoid lebih rendah pada suhu kamar (35°C) dibandingkan suhu dingin (4°C) selama penyimpanan (Mrmosanin *et al.*, 2014). Kandungan flavonoid seperti di dalam selai jeruk mengalami penurunan pada penyimpanan selama 30 hari pada suhu 25°C dan 35°C (Djaoudene *et all.*, 2016). Aktivitas antioksidan tomat menurun pada penyimpanan hari ke-3, naik pada hari ke-6, kemudian kembali turun pada hari ke-9 (Evelin, 2014). Flavonoid tidak stabil terhadap pengaruh oksidasi, cahaya, dan perubahan kimia, sehingga apabila teroksidasi strukturnya akan berubah dan fungsinya sebagai bahan aktif akan menurun (Handayani dan Sulisty, 2008).

Flavonoid terbukti memiliki aktivitas antioksidan penangkap radikal bebas, pencegahan penyakit jantung koroner, hepatoprotektor, anti-inflamasi, antikanker dan antivirus (Kumar *et al.*, 2013). Pada konsentrasi tinggi radikal bebas dalam tubuh dapat menyebabkan berbagai macam penyakit seperti penyakit kronis dan degeneratif, penyakit yang dapat timbul akibat paparan

radikal bebas yaitu kanker, artritis, penuaan, gangguan autoimun, penyakit kardiovaskular dan neurodegeneratif (Pham-huy *et al.*, 2008).

Sumber-sumber antioksidan dapat berupa antioksidan sintetik maupun antioksidan alami. Tetapi saat ini penggunaan antioksidan sintetik mulai dibatasi karena ternyata dari hasil penelitian yang telah dilakukan bahwa antioksidan sintetik seperti BHT (*Butylated Hydroxy Toluena*) ternyata dapat meracuni binatang percobaan dan bersifat karsinogenik, oleh karena itu industri makanan dan obat-obatan beralih mengembangkan antioksidan alami dan mencari sumber-sumber antioksidan alami baru (Ito dkk., 2008).

Penelitian mengenai kubis bunga yang memiliki aktivitas antiosidan masih jarang dilakukan, berdasarkan latar belakang di atas, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh suhu dan lama penyimpanan terhadap kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol kubis bunga (*Brassica oleracea var. botrytis L.*)

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, dapat dibuat rumusan masalah sebagai berikut:

1. Apakah ekstrak etanol kubis bunga mengandung flavonoid dan seberapa besar kadar flavonoidnya ?
2. Apakah suhu dan lama penyimpanan berpengaruh terhadap kadar flavonoid dalam ekstrak etanol kubis bunga?
3. Apakah suhu dan lama penyimpanan mempengaruhi aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol kubis bunga?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Mengetahui ada tidaknya kandungan flavonoid dan kadarnya dalam ekstrak etanol kubis bunga.
2. Mengetahui ada tidaknya pengaruh suhu dan lama penyimpanan terhadap kadar flavonoid dalam ekstrak etanol kubis bunga.
3. Mengetahui ada tidaknya pengaruh suhu dan lama penyimpanan terhadap aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol kubis bunga.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan dan memberi informasi tentang kubis bunga yang memiliki aktivitas antioksidan alami yang dapat bermanfaat untuk mencegah penyakit degeneratif, sehingga pada penelitian lebih lanjut dapat dikembangkan sebagai calon obat atau fitofarmaka yang mempunyai khasiat antioksidan.

E. Tinjauan Pustaka

1. Bunga kubis

Klasifikasi kubis bunga (*Brassica oleracea* var. *botrytis* L.) Menurut Rukmana (1994) sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Sub-divisio	: Angiospermae
Classis	: Dicotyledonae
Familia	: Cruciferae
Genus	: Brassica
Species	: <i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i> L.

Kubis bunga alias kembang kol (*Brassica oleracea var. botrytis* L.) mempunyai bunga yang berwarna putih. Daging bunganya padat, tebal, yang tersusun dari rangkaian bunga kecil yang bertangkai pendek. Garis tengah kepala bunga sekitar 20 cm (Pracaya, 2005). Tanaman kubis bunga termasuk dalam golongan tanaman sayuran semusim atau umur pendek. Tanaman tersebut hanya dapat berproduksi satu kali dan setelah itu akan mati. Pemanenan kubis bunga dapat dilakukan pada umur 60 – 70 hari setelah tanam, tergantung pada jenis dan varietasnya (Cahyono, 2001). Tanaman kubis bunga dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Kubis bunga (*Brassica oleracea var. botrytis* L)
(Dokumentasi pribadi)

Kubis bunga mengandung flavonoid total sebesar 12 % b/b ER (Nurhaeni., dkk 2014). Menurut Rukmana (1994), komposisi zat gizi dan mineral setiap 100 g kubis bunga adalah kalori (25,0 kal), protein (2,4 g), karbohidrat (4,9 g), kalsium (22,0 mg), fosfor (72,0 mg), zat besi (1,1 mg), vitamin A (90,0 mg), vitamin B1 (0,1 mg), vitamin C (69,0 mg) dan air (91,7 g).

2. Antioksidan

Antioksidan adalah bahan yang mampu mencegah oksidasi pada molekul organik (Youngson, 2005). Mekanisme kerja antioksidan secara umum adalah menghambat oksidasi lemak. Untuk mempermudah pemahaman tentang

mekanisme kerja antioksidan perlu dijelaskan lebih dahulu mekanisme oksidasi lemak. Oksidasi lemak terdiri dari tiga tahap utama yaitu inisiasi, propagasi, dan terminasi. Pada tahap inisiasi terjadi pembentukan radikal asam lemak, yaitu suatu senyawa turunan asam lemak yang bersifat tidak stabil dan sangat reaktif akibat dari hilangnya satu atom hidrogen. Pada tahap selanjutnya, yaitu propagasi, radikal asam lemak akan bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksi. Radikal peroksi lebih lanjut akan menyerang asam lemak menghasilkan hidroperoksida dan radikal asam lemak baru. Hidroperoksida yang terbentuk bersifat tidak stabil dan akan terdegradasi lebih lanjut menghasilkan senyawa-senyawa karbonil rantai pendek seperti aldehida dan keton yang bertanggung jawab atas flavor makanan berlemak. Tanpa adanya antioksidan, reaksi oksidasi lemak akan mengalami terminasi melalui reaksi antar radikal bebas membentuk kompleks bukan radikal (Kumalaningsih, 2006)

Berdasarkan sumbernya antioksidan dibedakan menjadi dua kelompok yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetik.

1. Antioksidan alami

Antioksidan alami merupakan antioksidan yang diperoleh dari bahan alam. Senyawa antioksidan yang termasuk ke dalam antioksidan alami antara lain ialah tokoferol (Winarno, 1984).

2. Antioksidan Sintetik

Menurut Winarno (1984) antioksidan sintetik yang sering digunakan adalah Butylated hydroxyanisole (BHA), Butylated hidroxytoluene (BHT), Propylgalate (PG), Tert-Butyl Hydroquinone (TBHQ) dan Nordihydroquaretic Acid (NDGA). BHA ini sangat mudah mengalami

degradasi oleh panas dan irradiasi oleh sinar UV. BHT biasanya ditambahkan pada bahan pangan dengan tujuan mencegah terjadinya proses autooksidasi.

3. Radikal bebas

Radikal bebas merupakan suatu molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan dalam orbital terluarnya sehingga sangat reaktif. Radikal ini cenderung mengadakan reaksi berantai yang apabila terjadi di dalam tubuh akan dapat menimbulkan kerusakan-kerusakan yang berlanjut dan terus menerus. Tubuh manusia memiliki sistem pertahanan endogen terhadap serangan radikal bebas terutama terjadi melalui peristiwa metabolisme sel normal dan peradangan. Jumlah radikal bebas dapat mengalami peningkatan yang diakibatkan faktor stress, radiasi, asap rokok dan polusi lingkungan menyebabkan sistem pertahanan tubuh yang ada tidak memadai, sehingga tubuh memerlukan tambahan antioksidan dari luar yang dapat melindungi dari serangan radikal bebas (Wahdaningsih dkk., 2011).

4. Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu metode yang digunakan dalam proses pemisahan suatu komponen dari campurannya dengan menggunakan sejumlah pelarut. Prinsip metode ekstraksi adalah perpindahan komponen zat ke dalam pelarut, dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut. Ekstraksi dapat dilakukan dengan berbagai cara, diantaranya adalah sebagai berikut :

1. Cara Dingin

a. Maserasi

Maserasi merupakan proses ekstraksi pada temperature ruangan menggunakan pelarut selama beberapa hari dengan beberapa kali

pengadukan dan ekstrak dipisahkan dengan penyaringan. Prosedur diulangi satu atau dua kali dengan pelarut segar. Maserasi dapat mencegah terurainya metabolit sekunder yang tidak tahan panas (Depkes RI, 1979).

b. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi yang umum dilakukan pada suhu ruangan dengan pelarut yang selalu baru. Prinsip kerja dari prosedur ini adalah simplisia dimasukkan ke dalam perkolator dan pelarut dialirkan dari atas melewati simplisia sehingga zat terlarut mengalir ke bawah dan ditampung. Metode ini lambat dan membutuhkan banyak pelarut (Depkes RI, 1979).

2. Cara panas

a. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut menggunakan temperatur titik didihnya selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas dan relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umum dilakukan pengulangan proses pada residu pertama samapai 3-5 kali sehingga proses ekstraksi sempurna (Depkes RI, 1979).

b. Sokhlet

Sokhlet adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru dengan menggunakan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi berkesinambungan dengan jumlah pelarut relatif konstan karena adanya pendingin balik (Depkes RI, 1979).

c. Digesti

Digesti adalah cara kinetik (dengan pengadukan kontinue) pada temperatur lebih tinggi dari temperatur ruangan, umumnya dilakukan pada suhu 40°C - 50°C (Depkes RI, 1979).

d. Infus

Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada penangas air mendidih dalam suhu 96°C -98°C selama waktu 15- 20 menit (Depkes RI, 1979).

e. Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama > 30 menit dan temperatur sampai titik didih air (Depkes RI, 1979).

Metode ekstraksi yang paling sederhana adalah metode maserasi yang dilakukan dengan cara merendam padatan dalam suatu pelarut dengan tujuan untuk mengekstrak suatu senyawa dari bahan alam yang dilakukan tanpa pemanasan (temperatur kamar). Salah satu keuntungan metode maserasi adalah cepat. Waktu rendam bahan dalam pelarut bervariasi antara 15-30 menit sampai 24 jam. Kelemahan dari metode ini adalah jumlah pelarut yang diperlukan cukup besar (Kristanti dkk., 2008).

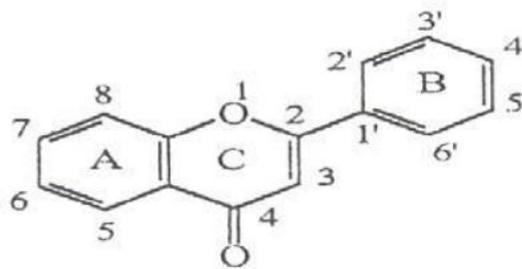
Penelitian yang dilakukan oleh Ridho pada tahun 2013 tentang uji aktivitas antioksidan ekstrak metanol buah lakum (*Cayratia trifolia*) dengan metode DPPH, Ekstraksi buah lakum menggunakan metode maserasi dengan menggunakan pelarut metanol. Metode maserasi dipilih karena prosesnya mudah dan tidak menggunakan suhu tinggi yang mungkin dapat merusak senyawa-senyawa kimia yang memiliki aktivitas antioksidan yang terdapat dalam simplisia buah lakum.

5. Flavonoid

Flavonoid merupakan sekelompok besar senyawa polifenol tanaman yang tersebar luas dalam berbagai bahan makanan dan dalam berbagai konsentrasi (Winarsi, 2007), flavonoid merupakan kelompok pigmen pemberi warna pada buah dan bunga yang dihasilkan suatu tanaman (Winarto, 2004). Senyawa flavonoid sebenarnya terdapat pada semua bagian tumbuhan termasuk daun, akar, kayu, kulit, tepung sari, bunga, buah, dan biji. Kebanyakan flavonoid ini berada di dalam tumbuh-tumbuhan, kecuali alga (Markham, 1988).

Flavonoid adalah senyawa polifenol yang terdiri dari 15 karbon dengan dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh jembatan tiga karbon (Gambar 2). Subkelas utama dari senyawa C₆-C₃-C₆ ini adalah flavon, flavonol, flavan-3-ols, isoflavon, flavanon, dan antosianid (Rio *et al.*, 2013)

Struktur dasar flavonoid dapat digambarkan sebagai berikut :



Gambar 2. Kerangka dasar flavonoid (Markham, 1988)

6. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan metode pemisahan komponen-komponen atas dasar perbedaan adsorpsi atau partisi oleh fase diam dipisahkan oleh gerakan pelarut pengembang. Adsorben dilapiskan pada lempeng kaca yang bertindak sebagai fasa diam. Fase gerak akan menyerap sepanjang fase

diam dan terbentuklah kromatogram. Pemilihan sistem pelarut dan komposisi lapisan tipis ditentukan oleh prinsip kromatografi yang akan digunakan. Biasanya yang sering digunakan sebagai materi pelapisnya adalah silika gel, bubuk selulosa, tanah diatome dan kieselguhr (Sastrohamidjojo, 2001).

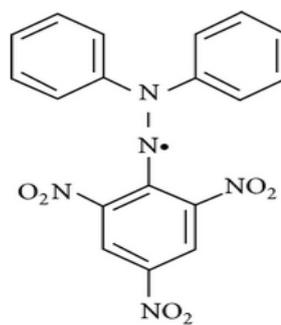
Penelitian yang dilakukan oleh Ridho pada tahun 2013 tentang uji aktivitas antioksidan ekstrak metanol buah lakum (*Cayratia trifolia*) dengan metode DPPH. Uji pendahuluan diawali dengan mengaktifkan plat KLT pada oven dengan suhu 105°C selama 10 menit. Fase diam yang digunakan adalah silika gel F254 dengan luas 2 x 10 cm dengan jarak elusi 9 cm. Fase gerak yang digunakan untuk mengelusi yaitu N-butanol : as. asetat : air (6:2:2) sebanyak 2 mL. Bercak yang terbentuk diamati dengan sinar tampak, lampu UV 366 nm, dan pereaksi DPPH 0,2%. Kromatogram diperiksa 30 menit setelah penyemprotan. Senyawa aktif penangkap radikal radikal bebas akan menunjukkan bercak berwarna kuning pucat dengan latar belakang ungu.

7. Spektrofotometri UV/VIS

Spektrofotometri UV-Vis merupakan salah satu teknik analisis spektroskopi yang memakai sumber radiasi elektromagnetik ultraviolet dekat (190-380) dan sinar tampak (380 - 780) dengan memakai instrumen spektrofotometer. Spektrofotometri UV-Vis melibatkan energi elektronik yang cukup besar pada molekul yang dianalisis, sehingga spektrofotometri UV-Vis lebih banyak dipakai untuk analisis kuantitatif ketimbang kualitatif (Mulja dan Suharman, 1995).

8. Metode DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*).

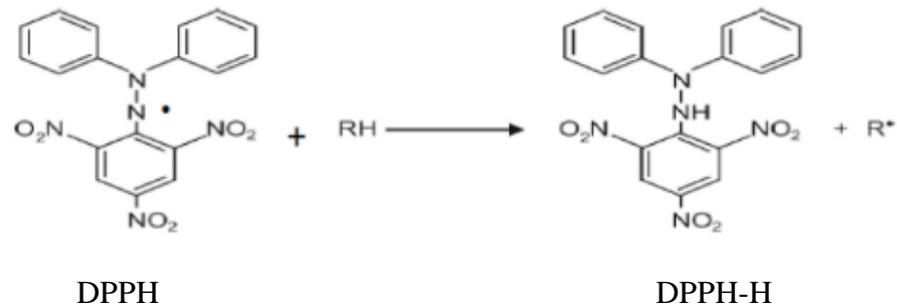
Berbagai macam metode untuk pengukuran aktivitas antioksidan telah banyak digunakan untuk melihat dan membandingkan aktivitas antioksidan pada berbagai macam sumber antioksidan. Beberapa metode pengukuran aktivitas antioksidan yang dapat digunakan antara lain metode beta karoten, metode linoleat, metode terkonjugasi, metode tiosianat, metode rancimat dan metode DPPH. Pengujian antioksidan dengan DPPH merupakan salah satu metode yang sederhana dengan menggunakan radikal *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil* sebagai senyawa pendeteksi. DPPH merupakan senyawa radikal bebas yang bersifat stabil sehingga dapat bereaksi dengan atom hidrogen yang berasal dari suatu antioksidan membentuk DPPH tereduksi (Molyneux 2004).



Gambar 3. Struktur Kimia DPPH (Forrester, *et al.*, 1968)

Menurut Miliauskas (2003), ketika radikal DPPH bereaksi dengan suatu senyawa antioksidan yang dapat mendonorkan radikal hidrogen, radikal DPPH akan terus tereduksi membentuk DPPH-H. Warna berubah dari ungu menjadi kuning terjadi ketika elektron radikal bebas DPPH berpasangan dengan sebuah

hidrogen dari penangkap radikal bebas suatu antioksidan. Mekanisme penghambatan radikal DPPH dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Mekanisme penghambatan radikal DPPH (Molyneux, 2004).

Keterangan :

DPPH : Diphenylpicrylhydrazil (ungu)

R-H : Antioksidan

DPPH-H : Diphenylpicrylhidrazin (kuning)

Besarnya daya antioksidan dihitung dengan rumus:

$$\text{Daya antioksidan} = \frac{\text{Absorban blanko} - \text{absorban sampel}}{\text{Absorban blanko}} \times 100\%$$

9. Penentuan Daya Antioksidan

Daya antioksidan dihitung dengan IC_{50} . IC_{50} didefinisikan sebagai konsentrasi dari larutan sampel yang mampu mereduksi aktivitas DPPH sebesar 50%. Semakin kecil nilai IC_{50} berarti semakin tinggi nilai antioksidan (Blois, 1958). Harga IC_{50} berbanding terbalik dengan kemampuan yang bersifat sebagai antioksidan. Semakin kecil nilai IC_{50} berarti semakin kuat daya antioksidannya (Nugraheni, 2007)

Presentase aktivitas antioksidan dapat dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{\text{Abs kontrol} - \text{Abs perlakuan}}{\text{Abs kontrol}} \times 100\%$$

F. LANDASAN TEORI

Penelitian yang dilakukan oleh Nurhaeni dkk (2014) menyatakan kubis bunga mengandung flavonoid sebesar 12 % b/b ER. Flavonoid yang terkandung dalam kubis bunga memiliki aktivitas antioksidan yang dinyatakan dalam besaran IC_{50} sebesar $297,91 \pm 1,358 \mu\text{g/mL}$. Menurut Molyneux (2004), bahwa suatu zat mempunyai sifat antioksidan bila nilai IC_{50} yang diperoleh berkisar antara 200-1000 $\mu\text{g/mL}$ sehingga dapat dikatakan bahwa kubis bunga memiliki aktivitas antioksidan. Beberapa golongan flavonoid memiliki ikatan glikosida dengan molekul gula, ikatan glikosida akan mudah rusak atau putus pada suhu tinggi (Poedjiadi 1994). Flavonoid tidak stabil terhadap pengaruh oksidasi, cahaya, dan perubahan kimia, sehingga apabila teroksidasi strukturnya akan berubah dan fungsinya sebagai bahan aktif akan menurun (Handayani dan Sulisty, 2008). Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Djoudene *et al* (2016) bahwa kandungan flavonoid dalam ekstrak selai jeruk mengalami penurunan pada penyimpanan selama 30 hari sebesar 19% dan 30% pada suhu 25°C dan 35°C.

Selama penyimpanan kandungan flavonoid dalam tomat mengalami penurunan signifikan pada hari ke-12, namun telah dimulai sejak hari ke-6. Aktivitas antioksidan tomat menurun pada penyimpanan hari ke-3, naik pada hari ke-6, kemudian kembali turun pada hari ke-9. Kandungan flavonoid tomat menurun sejak penyimpanan hari ke-12 (Evelin, 2014).

G. Hipotesis

1. Ekstrak etanol kubis bunga mengandung flavonoid dengan kadar tertentu.
2. Suhu dan lama penyimpanan mempengaruhi kadar flavonoid dalam ekstrak etanol kubis bunga.
3. Suhu dan lama penyimpanan mempengaruhi aktivitas antioksidan dalam ekstrak etanol kubis bunga.



