

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Dewasa ini banyak terjadi masalah penyakit degeneratif seperti misalnya kanker, kardiovaskuler, gangguan fungsi ginjal dan diabetes mellitus. Penyakit degeneratif ini disebabkan karena antioksidan yang ada di dalam tubuh tidak mampu menetralkan peningkatan konsentrasi radikal bebas (Soeksmanto dkk, 2007). Radikal bebas merupakan senyawa atau molekul yang ada didalam tubuh sangat berbahaya mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada bagian orbital luarnya. Adanya elektron yang tidak berpasangan mengakibatkan senyawa tersebut sangat reaktif untuk mencari pasangannya (Sayuti dan Yenrina, 2015).

Antioksidan merupakan senyawa yang mampu mengikat radikal bebas di dalam tubuh manusia. Antioksidan dapat diperoleh dalam bentuk alami dan sintetik. Antioksidan sintetik seperti *buthylatedhydroxytoluene* (BHT), *buthylated hidroksianisol* (BHA) dan *ters-butylhydroquinone* (TBHQ). Namun, penggunaan antioksidan sintetik dapat menyebabkan racun didalam tubuh dan bersifat karsinogenik, sehingga penggunaannya dibatasi oleh pemerintah. Oleh karena itu, perlu dikembangkan antioksidan alami yang aman (Jin dkk, 2012). Aktivitas antioksidan pada selada merah paling tinggi dibanding selada jenis lainnya (Gan dan Azrina, 2016).

Selada merah mengandung senyawa aktif flavonoid sebagai antioksidan yang dapat mengikat radikal bebas dan diharapkan mampu menurunkan resiko

terjadinya penyakit degeneratif (Gan dan Azrina, 2016). Selain flavonoid, selada merah mengandung vitamin A, vitamin C, vitamin E, vitamin K (Anonim, 2016), saponin, polifenol, alkaloid (Depkes, 1994) dan senyawa fenolik yang kandungannya lebih tinggi dibanding selada jenis lainnya (Gan dan Azrina, 2016).

Fraksi *n*-heksan digunakan bertujuan untuk menarik flavonoid yang bersifat non polar. Mu'awwanah dan Ulfah (2015) membuktikan bahwa fraksi *n*-heksan ekstrak etanol daun karika (*Carica pubescens*) mempunyai aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ sebesar 157,1 ppm dan dapat menarik senyawa golongan flavonoid. Lisdawati dan Kardono (2006) membuktikan bahwa fraksi *n*-heksan ekstrak kasar daging buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) mengandung senyawa flavonoid.

Berdasarkan uraian diatas maka dilakukan penelitian mengenai selada merah (*Lactuca sativa* Var. *chrispa*) sebagai antioksidan alami masih jarang dilakukan, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya aktivitas antioksidan fraksi *n*-heksan dari selada merah (*Lactuca sativa* Var. *chrispa*) menggunakan metode DPPH dengan pembandingan quersetin dan menetapkan kadar flavonoid total menggunakan metode kolorimetri dengan pereaksi AlCl₃.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka dapat dirumuskan beberapa masalah penelitian, sebagai berikut :

1. Apakah fraksi *n*-heksan ekstrak etanol selada merah (*Lactuca sativa* Var. *chrispa*) memiliki aktivitas antioksidan?

2. Apakah dalam fraksi *n*-heksan ekstrak etanol selada merah (*Lactuca sativa* Var. *chrispa*) mengandung flavonoid dan seberapa besar kadar flavonoid total nya?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Mengetahui adanya aktivitas antioksidan dan besarnya aktivitas antioksidan fraksi *n*-heksan ekstrak etanol selada merah (*Lactuca sativa* Var. *chrispa*)
2. Mengetahui adanya flavonoid dan kadar flavonoid total dalam fraksi *n*-heksan ekstrak etanol selada merah (*Lactuca sativa* Var. *chrispa*)

D. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini nantinya diharapkan dapat memberikan manfaat yaitu:

1. Memberikan informasi ilmiah mengenai fraksi *n*-heksan ekstrak etanol selada merah (*Lactuca sativa* Var. *chrispa*) yang memiliki aktivitas antioksidan alami.
2. Menambah ilmu pengetahuan tentang antioksidan dalam bidang kesehatan serta referensi bagi penelitian selanjutnya.

E. Tinjauan Pustaka

1. Radikal Bebas

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang memiliki 1 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 secara kimiawi menjadi sangat aktif (Winarsi, 2007). Sumber radikal bebas bisa berasal dari proses metabolisme dalam tubuh (internal) dan dapat berasal dari luar tubuh (eksternal). Radikal

bebas mencakup asap rokok, polusi, radiasi, sinar UV, obat, pestisida, dan limbah industri (Youngson, 2005).

2. Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang dapat menunda, memperlambat dan mencegah terjadinya oksidasi dan dapat menghentikan reaksi pembentukan radikal bebas (Winarsi, 2007). Mekanisme kerja antioksidan adalah :

- 1) Pemberi atom hidrogen (antioksidan primer) senyawa ini dapat memberikan atom hidrogen secara cepat ke radikal lipida atau merubahnya ke bentuk lebih stabil
- 2) Memperlambat laju antioksidan dengan berbagai mekanisme diluar mekanisme pemutusan rantai oksidasi dengan perubahan radikal lipida ke bentuk yang lebih stabil.

Antioksidan juga merupakan suatu senyawa pemberi yang mampu menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Antioksidan sendiri dikelompokkan menjadi dua jenis, yaitu antioksidan enzimatis dan non-enzimatis dan berdasarkan mekanisme kerjanya antioksidan digolongkan menjadi tiga kelompok yaitu antioksidan primer, sekunder, tersier (Winarsi, 2007). Aktivitas antioksidan dapat dihitung dengan rumus :

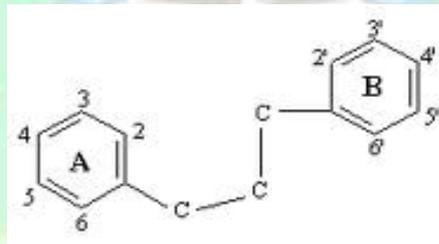
$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{\text{abs kontrol} - \text{abs sampel}}{\text{abs kontrol}} \times 100\%$$

Senyawa antioksidan alami yang ada dalam tanaman adalah tocopherol (vitamin E), cystein, glutation, D-penicillami, vitamin C, betakaroten, flavonoid dan senyawa fenolik. Antioksidan yang dibuat oleh

tubuh kita sendiri yaitu berupa enzim antara lain superoksida dismutase, glutathion peroksida, peroksidase dan katalase, didalam tubuh terdapat didalam darah (molekul transferin) yang mengandung zat besi dan seruloplasmin protein. Antioksidan alami tubuh ini bekerja dengan cara mencegah produksi radikal bebas. (Youngson, 2005).

3. Flavonoid

Flavonoid yang dikenal oleh produk alam dengan efek yang menguntungkan bagi kesehatan. Senyawa ini dapat diisolasi sebagai senyawa yang efektif. Flavonoid secara kimia mempunyai struktur dasar dengan dua cincin aromatik dengan tiga atom c dan flavonoid itu merupakan metabolit sekunder. Kerangka dasar flavonoid dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Kerangka Flavonoid (Markham, 1988)

Flavonoid biasanya banyak terdapat pada berbagai tanaman seperti buah, daun, biji, akar, kulit, kayu, batang dan bunga. Flavonoid adalah senyawa yang memberikan warna menarik pada bunga, buah-buahan dan daun (Raharjo, 2013).

Flavonoid berperan sebagai antioksidan dengan cara mendonasikan atom hidrogennya atau melalui kemampuannya mengkelat logam, berada dalam bentuk glukosida (mengandung rantai samping glukosa) atau dalam bentuk bebas yang disebut aglikon (Cuppet et al., 1954).

4. Selada Merah (*Lactuca sativa* Var. *chrispa*)

a. Klasifikasi

Selada merah dalam sistematika tumbuhan diklasifikasikan sebagai berikut (Cahyono, 2005; Depkes, 1994):

Kingdom	: Plantae
Super Division	: Spermathophyta
Division	: Angiospermae
Class	: Dicotyledonae
Ordo	: Asterales
Familia	: Asteraceae
Genus	: <i>Lactuca</i>
Species	: <i>Lactuca sativa</i> L.
Varietas	: <i>Lactuca sativa</i> Var. <i>chrispa</i>

b. Morfologi

Selada merah (*Lactuca sativa* Var. *chrispa*) memiliki daun berbentuk bulat panjang, berukuran besar dengan panjang 20 cm - 25 cm dan lebar 15 cm atau lebih, bagian tepi daun bergigi (keriting) dan daunnya berwarna merah keunguan (violet). Daun selada merah memiliki tangkai daun lebar dan tulang-tulang daun menyirip. Tangkai daun bersifat kuat dan halus. Daun bersifat renyah dan lunak apabila dimakan. Bunga tanaman selada merah berwarna kuning dan memiliki tangkai bunga yang panjang sampai dapat mencapai 80 cm atau lebih. Buah selada merah berbentuk polong yang berisi biji-biji yang berukuran

sangat kecil dengan panjang 4 mm dan lebar 1 mm. Biji tananam selada berbentuk pipi, agak keras, berwarna coklat tua, biji selada merupakan biji tertutup dan berkeping dua serta dapat digunakan untuk perbanyakan tanaman (Cahyono, 2005).

Tanaman selada merah memiliki batang sejati. Batangannya sangat pendek dan hampir tidak terlihat, terletak pada bagian dasar tanaman serta berada di dalam tanah. Selada merah ada yang membentuk krop dan ada yang tidak membentuk krop memiliki batang yang lebih panjang dan terlihat. Batang bersifat tegap, kokoh, berbuku-buku dan kuat dengan ukuran diameter kisaran antara 2 cm – 3 cm. Sistem perakaran tanaman selada merah yaitu tunggang dan serabut. Akar serabut menempel pada batang, tumbuh menyebar kesemua arah pada kedalaman 20 cm – 50 cm, sedangkan akar tunggangnya tumbuh lurus (Cahyono, 2005). Gambar selada merah (*Lactuca sativa* Var. *chrispa*) dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Selada Merah (*Lactuca sativa* Var. *chrispa*) (Koleksi pribadi)

c. Kandungan Kimia

Daun selada merah mempunyai antosianin yang menyebabkan warna merah (Zhang dkk, 2016). Kandungan kimia selada merah antara lain adalah flavonoid, fenolik (Gan dan Azrina, 2016), saponin, polifenol

dan juga alkaloid (Depkes RI, 1994), vitamin A, vitamin C, vitamin E dan vitamin K (Anonim, 2016). Flavonoid merupakan senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan (Winarsi, 2007).

5. Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pemisahan suatu bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang didasarkan pada kelarutan komponen terhadap komponen lain dalam campuran (Depkes, 2000). Bahan yang akan diekstrak biasanya berupa bahan kering yang telah dihancurkan, biasanya berbentuk bubuk atau simplisia (Sembiring, 2007). Simplisia merupakan bahan alamiah yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan dan kecuali dikatakan lain berupa bahan yang telah dikeringkan (Depkes, 2000).

Proses pengekstraksian komponen kimia dalam sel tanaman yaitu pelarut organik akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dalam pelarut organik di luar sel, maka larutan terpekat akan berdifusi keluar sel dan proses ini akan berulang terus sampai terjadi keseimbangan antara konsentrasi cairan zat aktif di dalam dan di luar sel. Ekstraksi bertujuan untuk mendapatkan komponen-komponen bioaktif suatu bahan (Harborne, 1987).

Metode ekstraksi biasanya dipilih berdasarkan sifat dari bahan mentah obat dan daya penyesuaian dengan tiap macam metode ekstraksi serta kepentingan dalam memperoleh ekstrak yang sempurna atau bahkan mendekati sempurna dari bahan obat (Ansel, 1989). Salah satu metode ekstraksi adalah maserasi. Maserasi adalah perendaman simplisia menggunakan pelarut organik

dengan beberapa kali pengadukan pada suhu ruangan. Remaserasi adalah penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan pada maserat pertama dan seterusnya. Keuntungan dari metode ini adalah cara pengerjaan mudah dan alat-alatnya sederhana, sedangkan kerugiannya adalah waktu pengerjaan lama, butuh pelarut dalam jumlah banyak dan tidak bisa untuk bahan-bahan yang mempunyai tekstur keras (Sudjadi, 2007).

Ekstrak yang didapat dari maserasi perlu dipisahkan dari pelarutnya dengan pemanasan dipercepat oleh putaran pada labu alas bulat dengan rotary evaporator, dengan bantuan pompa vakum, uap penyari akan menguap naik ke kondensor dan mengalami kondensasi menjadi molekul-molekul cairan pelarut murni yang akan ditampung dalam labu alat bulat penampung. Larutan penyari dapat menguap karena adanya penurunan tekanan (Sudjadi, 2007).

Metode maserasi juga telah dilakukan pada isolasi, identifikasi senyawa alkaloid total daun tempuyung (*Sonchus arvensis Linn*) dan uji stotoksik dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) (Murtadlo dkk, 2013).

6. Fraksinasi

Fraksinasi merupakan prosedur pemisahan yang bertujuan memisahkan golongan utama kandungan yang satu dari golongan utama yang lain. Pemisahan jumlah dan jenis senyawa menjadi fraksi yang berbeda untuk tiap tanaman berbeda-beda. Senyawa yang bersifat polar akan masuk ke pelarut polar dan senyawa yang bersifat nonpolar akan masuk ke pelarut non polar (Harbone, 1996).

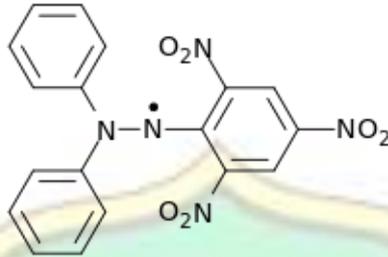
Salah satu metode fraksinasi adalah partisi cair-cair biasa juga disebut sebagai metode corong pisah. Jika suatu cairan ditambahkan ke dalam ekstrak yang telah dilarutkan dalam cairan yang tidak dapat bercampur dengan yang pertama, akan terbentuk dua lapisan. Satu komponen dari campuran akan memiliki kelarutan dalam kedua lapisan tersebut (biasanya disebut fase) dan setelah beberapa waktu dicapai kesetimbangan konsentrasi dalam kedua lapisan. Waktu yang diperlukan untuk tercapainya kesetimbangan biasanya dipersiapkan oleh pencampuran keduanya dalam corong pisah (Tobo, 2001).

Fraksinasi dengan metode partisi cair-cair telah dilakukan pada pengaruh ekstrak dan fraksinasi terhadap kemampuan menangkap radikal bebas DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) ekstrak dan fraksi daun beluntas (*Pluchea indicia Less*) (Widyawati dkk, 2010).

7. DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)

DPPH (1,1-Difenil-2-pikrihidrazil) adalah 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 aktibitas antioksidan dari suatu ekstrak. Senyawa DPPH bereaksi dengan senyawa antioksidan melalui pengambilan atom hidrogen dari senyawa antioksidan untuk mendapatkan pasangan elektron. Senyawa yang bereaksi sebagai penangkap radikal akan mereduksi DPPH, yang dapat diamati dengan adanya perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning ketika elektron ganjil dari radikal DPPH telah berpasangan dengan hydrogen dari senyawa

penangkap radikal bebas (Molyneux, 2004). Gambar struktur kimia DPPH dapat dilihat pada Gambar 3.



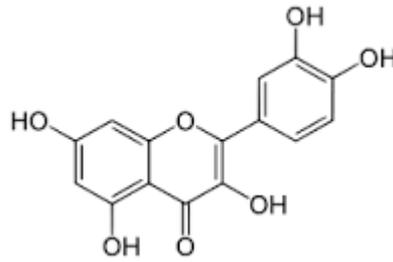
Gambar 3. Struktur Kimia DPPH(1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) (Molyneux, 2004).

Metode DPPH telah dilakukan pada aktivitas antioksidan dari ekstrak daun prasman (*Eupatorium triplinerve* Vahl.) (Munte dkk, 2015).

8. Quersetin

Quersetin adalah suatu senyawa flavonoid dalam sayuran atau buah-buahan yang berpotensi sebagai antioksidan. Potensi tersebut ditunjukkan oleh posisi gugus hidroksinya yang mampu langsung menangkap radikal bebas. Quersetin memiliki sifat antiradikal paling kuat terhadap radikal hidroksil, peroksil, dan anion superoksida (Winarsi, 2007).

Quersertin memiliki aktivitas antioksidan yang kuat karena memiliki struktur, yaitu 3', 4'-dihidroksi pada cincin B; 2,3 ikatan rangkap pada cincin C dan sebuah gugus 5-hidroksil pada cincin A. Secara umum ditunjukkan pada Gambar 4.



Gambar 4. Struktur quersetin (Silalahi, 2006)

Dilihat dari struktur kimianya, quersetin memiliki aktivitas kuat sebagai pemberi hidrogen (hydrogen-donating) karena kandungan hidroksilasi yang 20 cukup, yakni 5 gugus OH dan lokasi gugus hidroksilnya terdapat pada sisi aktif (C5,C7,C3' dan C4') (Silalahi, 2006).

Quersetin sebagai pembanding juga digunakan pada isolasi, identifikasi dan uji aktivitas antioksidan senyawa flavonoid dari ekstrak etil asetat daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) (Ramadhani dkk, 2013).

9. Inhibition concentration (IC₅₀)

IC₅₀ adalah agen konsentrasi yang menghasilkan penurunan 50% pada sampel dan kontrol. Jika nilai persen penghambatan sesuai pada setiap konsentrasi sampel pengujian yang dihitung, nilai persen penghambatan dapat diplot pada grafik yang memperoleh nilai IC₅₀ (Blumethal, 2005). Harga IC₅₀ berbanding terbalik dengan kemampuan zat atau senyawa yang bersifat antioksidan. Semakin kecil IC₅₀ semakin kuat daya antioksidannya (Molyneux, 2004). Klasifikasi aktivitas antioksidan menurut Blois (1958) dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Klasifikasi Aktivitas Antioksidan (Blois, 1958)

Nilai IC ₅₀	Antioksidan
<50 ppm	Sangat kuat
50-100 ppm	Kuat
100-150 ppm	Sedang
151-200 ppm	Lemah

F. Landasan Teori

Selada merah mengandung senyawa flavonoid yang dapat mengikat radikal bebas (Gan dan Azrina, 2016). Mu'awwanah dan Ulfah (2015) membuktikan bahwa fraksi *n*-heksan ekstrak etanol daun karika (*Carica pubescens*) mempunyai aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ sebesar 157,1 ppm.

Mu'awwanah dan Ulfah (2015) membuktikan bahwa fraksi *n*-heksan ekstrak etanol daun karika (*Carica pubescens*) dapat menarik senyawa golongan flavonoid. Lisdawati dan Kardono (2006) membuktikan bahwa fraksi *n*-heksan ekstrak kasar daging buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) mengandung senyawa flavonoid. Pelarut yang digunakan yaitu etanol 96% karena senyawa flavonoid yang terkandung dalam selada yaitu quersetin (Hertog dkk, 1992).

G. Hipotesis

Berdasarkan landasan teori diatas dapat diambil hipotesis yaitu :

1. Fraksi *n*-heksan ekstrak etanol selada merah memiliki aktivitas antioksidan dengan parameter nilai IC₅₀.
2. Fraksi *n*-heksan ekstrak etanol selada merah mengandung senyawa flavonoid yang ditetapkan kadarnya.