

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **A. Latar Belakang Masalah**

Senyawa radikal bebas bersumber dari bahan-bahan kimia yang berasal dari penggunaan pestisida, polusi udara, asap rokok, alkohol, bahkan dari penggunaan bahan kimia sintesis pada obat dan pangan, dapat memicu timbulnya berbagai penyakit. Radikal bebas dapat menyebabkan stress oksidatif, namun dapat dicegah dengan senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan. Sumber antioksidan dapat diperoleh dari bahan alam, contohnya daun jengkol (Sen, dkk., 2010).

Tanaman jengkol (*Pithecellobium jiringa*) dikenal masyarakat sebagai bahan makanan, tetapi dapat digunakan sebagai pengobatan. Salah satu bagian tanaman jengkol yang banyak dimanfaatkan sebagai pengobatan adalah daun. Penelitian Ilma dkk. (2016) melaporkan bahwa ekstrak etanol 95 % kulit buah jengkol mengandung alkaloid, flavonoid, polifenol, tanin, dan saponin. Ekstrak etanol 70 % daun jengkol (*Pithecellobium jiringa*) memiliki kandungan berupa flavonoid, polifenol, tanin, dan kuinon (Yunitasari, dkk., 2016).

Senyawa fenolik dan flavonoid yang terkandung dalam tanaman diketahui dapat menangkal senyawa radikal bebas. Fenol merupakan metabolit sekunder yang terbesar dalam tumbuhan. Senyawa yang termasuk dalam kelompok fenolik adalah fenol, saponin, tanin, dan flavonoid (Proestos, dkk., 2006). Kebanyakan sumber antioksidan pada tumbuhan berasal dari kelompok senyawa flavonoid (Ren, dkk., 2003). Flavonoid dapat memberikan efek antioksidan dengan cara mencegah

terbentuknya ROS (*Reactive Oxygen Species*) atau menangkap ROS secara langsung (Akhlaghi, dkk., 2009).

Daun jengkol diekstraksi dengan ekstraksi cara dingin yaitu metode perkolasi (Depkes RI, 2000). Metode perkolasi dipilih karena senyawa fenolik dan flavonoid mengalami penurunan kadar dengan pemanasan tinggi (Jahangiri, dkk., 2011; Syafrida, dkk., 2018). Prinsip perkolasi yaitu menggunakan pelarut yang selalu baru sehingga tidak terjadi kejenuhan dan ekstrak yang diperoleh lebih banyak (Depkes RI, 2000). Perbedaan metode ekstraksi mempengaruhi perolehan kandungan ekstrak (Safitri, dkk., 2018). Kandungan ekstrak tertinggi yang diperoleh berturut-turut adalah perkolasi, maserasi, sokhlet, dan refluks. Metode ekstraksi yang menghasilkan kadar fenolik total dan flavonoid total terbesar adalah metode perkolasi (Safitri, dkk., 2018).

Penelitian Gul dkk. (2013) menunjukkan bahwa kadar fenolik total dan flavonoid total ekstrak daun *Abrus precatorius* tertinggi secara berturut-turut adalah ekstrak etil asetat, etanol, dan *n*-heksan. Penelitian Muslim dkk. (2012) menunjukkan ekstrak etanol 96 % buah jengkol memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat dengan nilai ( $IC_{50} = 33,52$  ppm). Nilai aktivitas antioksidan ekstrak daun *Abrus precatorius* ditunjukkan dengan nilai  $IC_{50}$  berturut-turut dari yang tertinggi adalah ekstrak etil asetat, etanol, dan *n*-heksan (Gul, dkk., 2013).

Fidrianny dkk. (2015) melaporkan ekstrak *n*-heksan, etil asetat, dan etanol daun kacang hijau mengandung fenolik total yang dapat dikorelasikan dengan aktivitas antioksidan yang diwakili oleh nilai  $IC_{50}$  dibuktikan dengan adanya korelasi negatif yang tinggi. Telah dibuktikan adanya korelasi negatif yang tinggi

kadar flavonoid total terhadap nilai  $IC_{50}$  dari ekstrak *n*-heksan, etil asetat, dan etanol daun *Phyllanthus emblica* (Fitriansyah, dkk., 2018). Korelasi negatif memiliki arti jika kadar fenolik total dan flavonoid total mengalami kenaikan, maka nilai  $IC_{50}$  mengalami penurunan (Surjaweni, 2014).

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka diketahui bahwa penelitian untuk menguji kadar fenolik total dan flavonoid total ekstrak etanol, *n*-heksan, dan etil asetat daun jengkol belum pernah dilakukan sebelumnya, serta perlu dilakukan penelitian untuk menguji korelasi kadar fenolik total dan kadar flavonoid total terhadap aktivitas antioksidan ekstrak etanol, *n*-heksan, dan etil asetat daun jengkol (*Pithecellobium jiringa*).

### **B. Perumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka diperoleh rumusan masalah sebagai berikut :

1. Berapakah kadar fenolik total dan kadar flavonoid total ekstrak *n*-heksan, etil asetat, dan etanol 96 % daun jengkol (*Pithecellobium jiringa*)?
2. Berapakah nilai aktivitas antioksidan ekstrak *n*-heksan, etil asetat, dan etanol 96 % daun jengkol (*Pithecellobium jiringa*) yang dinyatakan dengan  $IC_{50}$ ?
3. Apakah kadar fenolik total dan kadar flavonoid total pada daun jengkol (*Pithecellobium jiringa*) memiliki korelasi terhadap aktivitas antioksidan?

### C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Menentukan kadar fenolik total dan kadar flavonoid total ekstrak *n*-heksan, etil asetat, dan etanol 96 % daun jengkol (*Pithecellobium jiringa*).
2. Menentukan nilai aktivitas antioksidan ekstrak *n*-heksan, etil asetat, dan etanol 96 % daun jengkol (*Pithecellobium jiringa*) yang ditunjukkan dengan IC<sub>50</sub>.
3. Mengetahui korelasi kadar flavonoid total daun jengkol (*Pithecellobium jiringa*) terhadap aktivitas antioksidan.

### D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah kepada peneliti selanjutnya mengenai senyawa fenolik dan flavonoid daun jengkol sebagai sumber antioksidan alami sehingga dapat dikembangkan untuk diteliti pada aktivitas biologis lainnya dan dapat digunakan sebagai acuan oleh industri farmasi untuk mengolah daun jengkol menjadi produk suplemen makanan yang memiliki aktivitas antioksidan.

### E. Tinjauan Pustaka

#### 1. Jengkol (*Pithecellobium jiringa*)

Tumbuhan jengkol (Gambar 1.) banyak ditemukan di Indonesia, Malaysia, dan Thailand. Tanaman ini sering digunakan oleh masyarakat Indonesia sebagai obat tradisional. Bagian tanaman yang digunakan secara tradisional adalah daun.



**Gambar 1. Pohon jengkol (dokumen pribadi)**

Menurut Setianingsih (1995), klasifikasi tanaman jengkol sebagai berikut :

- Kingdom : Plantae
- Divisi : Spermatophyta
- Subdivisi : Angiospermae
- Kelas : Dicotyledoneae
- Bangsa : Rosales
- Suku : Leguminosae
- Marga : Pithecellobium
- Spesies : *Pithecellobium jiringa*

Tumbuhan ini memiliki nama latin *Pithecellobium jiringa* dengan nama sinonimnya yaitu *A. Jiringa*, *Pithecellobium lobatum* Benth., dan *Archidendron pauciflorum*. Tanaman jengkol memiliki ukuran pohon yang tinggi yaitu  $\pm$  10-26 m. Bentuk daun jengkol bersirip ganda dua, warna hijau tua. Bentuk polong buah cembung berwarna lembayung tua. Polong buah jengkol berisi 5-7 biji. Biji buah jengkol adalah bagian yang sering

dimanfaatkan sebagai bahan makanan. Selain itu digunakan sebagai obat-obatan (Setianingsih, 1995).

Daun jengkol (*Pithecellobium jiringa*) memiliki kandungan berupa flavonoid, saponin, polifenol, tanin, dan kuinon (Yunitasari, dkk., 2016). Kebanyakan sumber antioksidan pada tumbuhan berasal dari kelompok senyawa flavonoid (Ren, dkk., 2003). Kandungan fenolik juga berperan penting dalam uji aktivitas antioksidan (Nurwaini, dkk., 2006).

## **2. Ekstraksi**

Ekstraksi adalah proses penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga dapat terpisah dari bahan yang tidak dapat larut menggunakan pelarut cair. Simplisia mengandung senyawa aktif yang dapat larut dan senyawa yang tidak dapat larut. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan ke dalam golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid, fenolik, saponin dan lain-lain (Depkes RI, 2000).

Proses perkolasi terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap perendaman antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetasan/penampungan perkolat) sampai diperoleh ekstrak (Depkes RI, 2000). Keuntungan dari metode perkolasi ini adalah proses penarikan zat berkhasiat dari tumbuhan lebih sempurna, sampel senantiasa dialiri oleh pelarut baru. Sedangkan kerugiannya adalah jika sampel dalam perkolator tidak homogen maka pelarut akan sulit menjangkau seluruh area. Selain itu, metode ini juga membutuhkan banyak pelarut dan memakan banyak waktu (Mukhriani, 2014).

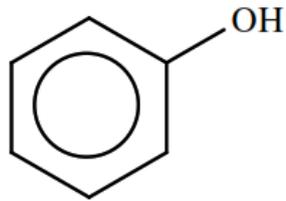
### 3. Aktivitas Antioksidan

Antioksidan adalah suatu proses yang mencegah terjadinya reaksi oksidasi yang disebabkan oleh radikal bebas. Tubuh manusia sebenarnya dapat menghasilkan antioksidan tapi jumlahnya tidak mencukupi untuk menetralkan radikal bebas yang jumlahnya semakin menumpuk didalam tubuh (Rahardjo, dkk., 2005). Radikal bebas dapat mengoksidasi asam nukleat, protein, lipid, serta DNA, sehingga menyebabkan penyakit degeneratif (Prakash, dkk., 2001).

Antioksidan konsentrasi kecil secara signifikan mampu menghambat atau mencegah oksidasi pada substrat yang disebabkan oleh radikal bebas (Isnindar, dkk., 2011). Senyawa antioksidan seperti asam fenolik, polifenol, dan flavonoid dapat meredam radikal bebas peroksida, hiperoksida atau lipid peroksidil dan menghambat mekanisme oksidatif yang menimbulkan penyakit degeneratif (Prakash dkk., 2001).

### 4. Fenolik

Fenol ( $C_6H_6OH$ ) merupakan senyawa organik yang mempunyai gugus hidroksil yang terikat pada cincin benzena. Senyawa fenol memiliki beberapa nama lain seperti asam karbolik, fenat monohidroksibenzena, asam fenat, asam fenilat, fenil hidroksida, oksibenzena, benzenol, monofenol, fenil hidrat, fenilat alkohol, dan fenol alkohol. Rumus struktur fenol dapat dilihat pada Gambar 2. (Nair, dkk., 2008).

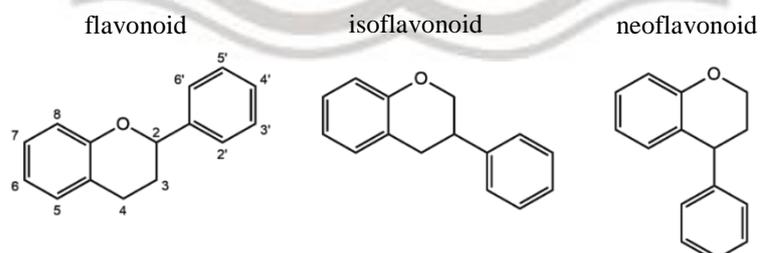


**Gambar 2. Struktur umum Fenol (Nair dkk., 2008)**

Beberapa senyawa yang termasuk dalam kelompok fenolik adalah fenol, saponin, tanin, dan flavonoid. Senyawa tersebut biasanya berada dalam bentuk glikosida atau ester pada tanaman (Proestos, dkk., 2006).

## 5. Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu jenis komponen yang terkandung dalam tanaman, dan dapat ditemukan pada semua tanaman. Struktur dasar ini terdiri dari dua cincin benzen (A dan B) yang dihubungkan melalui cincin heterosiklik piran atau piron (dengan ikatan ganda) yang disebut cincin "C" dan struktur dasar flavonoid adalah rangkaian cincin karbon C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>. Flavonoid terdapat pada semua bagian tumbuhan termasuk daun, akar, kayu, kulit, tepung sari, bunga, buah, dan biji (Markham, 1988). Bergantung pada posisi ikatan dari cincin aromatik benzena pada rantai penghubung tersebut, kelompok flavonoid dibagi menjadi 3 kelas utama, flavonoid, isoflavonoid, dan neoflavonoid. Perbedaan struktur kelas utama tersebut dapat dilihat pada Gambar 3.

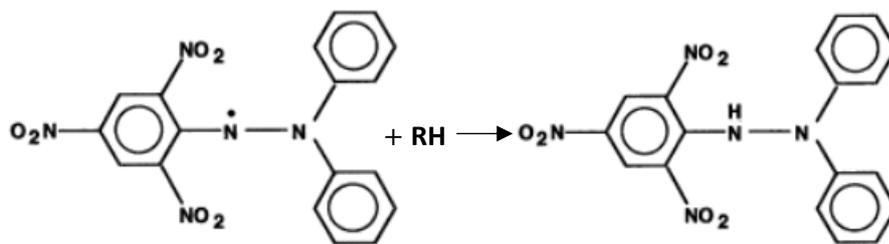


**Gambar 3. Struktur Umum Flavonoid, Isoflavonoid, dan Neoflavonoid (Grotewold, 2006)**

Flavonoid merupakan senyawa fenolik yang paling umum, karena tersebar luas di jaringan tanaman, dan bersama karotenoid dan klorofil bertanggung jawab memberikan warna seperti biru, ungu, kuning, oranye, dan merah pada tanaman. Flavonoid meliputi flavon, flavonol, iso-flavonol, antosianin, antosianidin, proantosianidin, dan katekin (Khoddami, dkk., 2013).

#### 6. DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*)

DPPH merupakan senyawa radikal bebas yang stabil dalam larutan metanol dan berwarna ungu tua. Mekanisme yang terjadi adalah proses reduksi senyawa DPPH oleh antioksidan yang menghasilkan pengurangan intensitas warna dari larutan DPPH. Reaksi DPPH dengan antioksidan dapat dilihat pada Gambar 4. Pemudaran warna akan mengakibatkan penurunan nilai absorbansi sinar tampak dari spektrofotometer (Asih, dkk., 2015).



Gambar 4. Reaksi DPPH dengan Antioksidan (Molyneux, 2004)

Dalam analisis, metode DPPH ini dilakukan dengan mengukur absorbansinya pada panjang gelombang 515 nm dan selanjutnya aktivitas antioksidan akan dihitung sebagai persentase inhibisi terhadap DPPH (Molyneux, 2004).

Larutan DPPH yang berisi sampel diukur absorbansinya dan dihitung aktivitas antioksidannya dengan persen inhibisi, yaitu banyaknya aktivitas senyawa antioksidan yang dapat menangkap radikal bebas DPPH. Parameter yang umum digunakan untuk mengetahui besarnya aktivitas antioksidan pada suatu ekstrak bahan adalah dengan menentukan nilai *Inhibition Concentration 50 %* ( $IC_{50}$ ) bahan antioksidan tersebut.  $IC_{50}$  merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi ekstrak yang mampu menghambat aktivitas radikal sebesar 50% (Molyneux, 2004).  $IC_{50}$  memiliki kategori sangat kuat ( $< 50$  ppm), kuat (50 ppm-100 ppm), sedang (101 ppm-150 ppm), dan lemah ( $> 150$  ppm) (Haeria, dkk., 2016).

## 7. Spektrofotometri UV-VIS

Spektrofotometri merupakan pengukuran suatu interaksi antara radiasi elektromagnetik dan molekul atau atom suatu zat kimia. Analisis farmasi yang sering digunakan meliputi spektroskopi serapan ultraviolet, cahaya tampak, inframerah dan serapan atom. Pengukuran spektrofotometri didalam daerah cahaya tampak, semula disebut kolorimetri. Untuk menghasilkan pengukuran yang baik, larutan yang diukur sebaiknya memberikan serapan sebesar 0,2-0,8 di daerah ultraviolet atau cahaya tampak (Kepmenkes RI, 2009).

Metode Spektrofotometri Ultra-violet dan Sinar Tampak berdasarkan pada hukum *Lambert-Beer*. Hukum tersebut menyatakan bahwa jumlah radiasi cahaya Tampak, ultraviolet dan cahaya-cahaya lain yang diserap atau ditransmisikan oleh suatu larutan merupakan suatu fungsi eksponen dari konsentrasi zat dan tebal larutan. Sinar UV memiliki panjang gelombang

190-400 nm dan sinar tampak memiliki panjang gelombang 380-800 nm (Skoog, dkk., 2007). Senyawa flavonoid memiliki panjang gelombang 415 nm dan senyawa fenolik memiliki panjang gelombang 765 nm (Pourmorad, dkk., 2006).

#### F. Landasan Teori

Penelitian Ilma dkk. (2016) melaporkan bahwa ekstrak etanol 95 % kulit buah jengkol mengandung alkaloid, flavonoid, polifenol, tanin, dan saponin. Ekstrak etanol 70 % daun jengkol (*Pithecellobium jiringa*) mengandung flavonoid, saponin, tanin, polifenol dan kuinon (Yunitasari, dkk., 2016). Senyawa fenolik dan flavonoid yang terkandung dalam tanaman diketahui dapat menangkal radikal bebas. Kebanyakan sumber antioksidan pada tumbuhan berasal dari kelompok senyawa flavonoid (Ren, dkk, 2003). Kandungan fenolik juga berperan penting dalam uji aktivitas antioksidan (Nurwaini, dkk., 2006).

Daun jengkol diekstraksi dengan ekstraksi cara dingin yaitu metode perkolasi (Depkes RI, 2000). Metode perkolasi dipilih karena senyawa fenolik dan flavonoid mengalami penurunan kadar dengan pemanasan tinggi (Jahangiri, dkk., 2011; Syafrida, dkk., 2018). Penelitian Safitri dkk. (2018) menunjukkan metode ekstraksi yang mampu menarik senyawa fenolik total dan flavonoid total paling banyak dari yang tertinggi ke terendah berturut-turut adalah perkolasi (25 %), maserasi (23 %), sokhlet (20,9 %), dan refluks (16,4 %).

Penelitian Gul dkk. (2013) menunjukkan kadar fenolik total dan flavonoid total ekstrak etil asetat, etanol, dan *n*-heksan ekstrak daun *Abrus precatorius* berturut-turut adalah 23,57; 7,44; dan 1,65 mg/g untuk kadar fenolik total dan

17,16; 7,23; dan 6,20 mg/g untuk kadar flavonoid total. Hasil penelitian Muslim dkk. (2012) menyebutkan aktivitas antioksidan ekstrak etanol 96 % buah jengkol ( $IC_{50} = 33,52$  ppm) memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat. Nilai aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun *Abrus precatorius* ditunjukkan dengan nilai  $IC_{50}$  berturut-turut dari yang terkuat adalah ekstrak etil asetat (57,66 ppm), ekstrak etanol (60,67 ppm), dan ekstrak *n*-heksan (196,70 ppm) (Gul, dkk., 2013).

Fidrianny dkk. (2015) melaporkan ekstrak *n*-heksan, etil asetat, dan etanol daun kacang hijau mengandung fenolik total yang dapat dikorelasikan dengan aktivitas antioksidan yang diwakili oleh nilai  $IC_{50}$  dibuktikan dengan adanya korelasi negatif yang tinggi ( $r = -0,650$ ;  $p < 0,05$ ). Telah dibuktikan adanya korelasi negatif yang tinggi kadar flavonoid total terhadap nilai  $IC_{50}$  dari ekstrak *n*-heksan, etil asetat, dan etanol daun *Phyllanthus emblica* ( $r = -0,926$ ;  $p < 0,01$ ) (Fitriansyah, dkk., 2018). Korelasi negatif memiliki arti jika kadar fenolik total dan flavonoid total mengalami kenaikan, maka nilai  $IC_{50}$  mengalami penurunan (Surjaweni, 2014).

### G. Hipotesis

Berdasarkan landasan teori tersebut, maka dapat diperoleh hipotesis yaitu :

1. Ekstrak *n*-heksan, ekstrak etil asetat, dan ekstrak etanol 96 % daun jengkol memiliki kandungan flavonoid dan fenolik
2. Ekstrak *n*-heksan, ekstrak etil asetat, dan ekstrak etanol 96 % daun jengkol memiliki aktivitas antioksidan

3. Terdapat korelasi antara kandungan flavonoid total dan fenolik total ekstrak *n*-heksan, ekstrak etil asetat, dan ekstrak etanol 96 % daun jengkol terhadap aktivitas antioksidan.

