

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

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

Tubuh manusia dapat mengalami reaksi oksidasi yang berlebihan sehingga terbentuk radikal bebas yang sangat aktif. Radikal bebas yang sangat aktif dapat merusak struktur serta fungsi sel dan dapat mengakibatkan penyakit degeneratif, seperti penuaan, artritis, kanker, dan lain-lain (Winarsi, 2007). Radikal bebas merupakan suatu molekul, atom atau beberapa grup atom yang mempunyai satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya (Muchtadi, 2013). Reaktivitas radikal bebas dapat dihambat oleh suatu antioksidan yang melengkapi sistem kekebalan tubuh. Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron, memiliki berat molekul kecil tetapi mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi. Antioksidan mencegah terbentuknya radikal bebas sehingga kerusakan sel akan dihambat (Winarsi, 2007).

Tumbuhan petai (*Parkia speciosa* Hassk.) banyak tersebar di hutan Indonesia. Petai memiliki manfaat mengendurkan syaraf, menghilangkan depresi, obat hati, ginjal, dapat menurunkan kematian akibat stroke, serta dapat menjaga saluran pencernaan (Susilo, 2012). Daun petai mengandung senyawa flavonoid, fenolik, saponin, steroid, dan terpenoid (Butarbutar dkk., 2016; Nafi'ah, dkk., 2017). Tumbuhan dapat menjadi sumber potensial antioksidan dengan adanya senyawa yang terkandung didalamnya salah satunya yaitu senyawa flavonoid yang merupakan salah satu kelompok fenolik dapat berperan sebagai antioksidan

dan terdapat pada jaringan tanaman (Redha, 2010). Flavonoid banyak ditemukan di dalam buah, sayur, daun, dan biji (Silvia dkk., 2016). Senyawa flavonoid dapat diekstraksi menggunakan pelarut yang berbeda polaritasnya yaitu etanol, etil asetat, dan *n*-heksan (Fitriansyah dkk., 2017). Menurut penelitian Gul dkk. (2013) tentang kandungan flavonoid total pada daun *Abrus precatorius* hasil dari yang tertinggi sampai terendah yaitu flavonoid total ekstrak etil asetat, etanol, dan yang terakhir *n*-heksan. Ekstrak daun *Phyllanthus embilca* mengandung senyawa flavonoid di ekstraksi dengan pelarut etanol, etil asetat, dan *n*-heksan terdapat korelasi sangat kuat antara flavonoid total dengan aktivitas antioksidannya (Fitriansyah dkk., 2018).

Berdasarkan latar belakang tersebut, perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui adanya aktivitas antioksidan dan penetapan kadar flavonoid total pada ekstrak etanol 96 %, etil asetat, dan *n*-heksan daun petai (*Parkia speciosa* Hassk.) serta mengetahui adanya korelasi antara kadar flavonoid total dengan aktivitas antioksidannya.

### **B. Perumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang permasalahan yang telah diuraikan diatas, maka perumusan masalah dapat dirumuskan sebagai berikut :

1. Berapakah kadar flavonoid total ekstrak etanol 96 %, etil asetat, dan *n*-heksan daun petai?
2. Berapakah nilai aktivitas antioksidan dengan metode DPPH ekstrak etanol 96 %, etil asetat, dan *n*-heksan daun petai dinyatakan dengan  $IC_{50}$ ?

3. Adakah korelasi antara kandungan flavonoid total ekstrak etanol 96 %, etil asetat, dan *n*-heksan daun petai terhadap aktivitas antioksidan?

### **C. Tujuan Penelitian**

Penelitian yang dilakukan bertujuan untuk :

1. Menentukan kadar flavonoid total ekstrak etanol 96 %, etil asetat, dan *n*-heksan daun petai.
2. Menentukan nilai aktivitas antioksidan dengan metode DPPH ekstrak etanol 96 %, etil asetat, dan *n*-heksan daun petai dinyatakan dengan  $IC_{50}$ .
3. Mengetahui korelasi antara kandungan flavonoid total ekstrak etanol 96 %, etil asetat, dan *n*-heksan daun petai terhadap aktivitas antioksidan.

### **D. Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai kandungan flavonoid total dan aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol 96%, etil asetat, dan *n*-heksan daun petai sehingga dapat digunakan untuk acuan penelitian selanjutnya tentang senyawa yang berpotensi sebagai sumber antioksidan alami dalam daun petai.

### **E. Tinjauan Pustaka**

#### **1. Radikal Bebas**

Radikal bebas dapat didefinisikan sebagai suatu molekul, atom atau beberapa grup atom yang mempunyai satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya. Terdapat berbagai macam radikal bebas sebagai turunan dari karbon (C) dan nitrogen (N) (Muchtadi, 2013). Radikal bebas bersifat sangat reaktif dan tidak stabil. Elektron yang tidak berpasangan

selalu berusaha untuk mencari pasangan baru, sehingga mudah bereaksi dengan zat lain (protein, lemak maupun DNA) (Sayuti dan Yenrina, 2015).

Radikal bebas yang terdapat dalam tubuh dapat berasal dari dalam (endogen) atau luar tubuh (eksogen). Secara endogen, radikal bebas terbentuk sebagai respon normal dari rantai reaksi respirasi (pernapasan) di dalam tubuh. Secara eksogen, radikal bebas diperoleh dari bermacam-macam sumber antara lain polutan, makanan dan minuman, radiasi, ozon dan pestisida (residu pestisida) (Muchtadi, 2013).

## 2. Antioksidan

Antioksidan dapat diperoleh dari makanan yang mengandung vitamin C, E, dan betacaroten serta senyawa flavonoid (Sayuti dan Yenrina, 2015). Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron, memiliki berat molekul kecil tetapi mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi. Antioksidan mencegah terbentuknya radikal bebas sehingga kerusakan sel akan dihambat (Winarsi, 2007).

Antioksidan berdasarkan fungsi dan mekanisme kerjanya yaitu antioksidan primer, sekunder dan tersier. Antioksidan primer bekerja untuk mencegah pembentukan senyawa radikal baru, yaitu mengubah radikal bebas yang ada menjadi molekul yang berkurang dampak negatifnya sebelum senyawa radikal bebas bereaksi. Contoh antioksidan primer adalah *Superoksida Dismutase* (SOD), katalase dan protein pengikat logam. Antioksidan sekunder bekerja dengan cara mengkelat logam yang bertindak sebagai pro-oksidan, menangkap radikal dan mencegah terjadinya reaksi berantai.

Antioksidan sekunder berperan sebagai pengikat ion-ion logam, penangkap oksigen, pengurai hidropoksida menjadi senyawa non radikal, penyerap radiasi UV atau deaktivasi singlet oksigen. Contoh antioksidan sekunder adalah vitamin E, vitamin C,  $\beta$ -caroten, isoflavon, bilirubin dan albumin (Sayuti dan Yenrina, 2015).

### 3. Petai (*Parkia Speciosa* Hassk.)

#### a. Klasifikasi Tanaman

Klasifikasi tanaman petai menurut Departemen Kesehatan RI (2001) adalah sebagai berikut :



Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Sub divisi	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Dicotyledonae</i>
Bangsa	: <i>Rosales</i>
Suku	: <i>Mimosaceae</i>
Marga	: <i>Parkia</i>
Jenis	: <i>Parkia speciosa</i> Hassk.

#### b. Morfologi

Petai (*Parkia speciosa* Hassk.) pohon dengan tinggi 5-15 m. Batang pohon petai berkayu, berbentuk bulat, bercabang, bekas tempat duduk daun kelihatan jelas, berwarna coklat kemerahan. Daun petai majemuk, pangkal membulat, ujung runcing, panjang 4-20 cm, lebar 2-3 mm, berwarna hijau. Bunganya majemuk, bentuknya bongkol, menggantung, kelopak bertajuk, benang sari sepuluh, pangkal mahkota melekat pada tabung benang sari,

bagian ujung berkelamin dua, tangkai sari panjang, bentuk gada, kuning, pangkal mahkota melekat, berwarna putih kekuningan. Buahnya polong, menggantung hijau. Biji tebal, pipih, hijau. Akar tunggang, berwarna coklat (Depkes, 2001). Daun petai dapat dilihat pada Gambar 1.



**Gambar 1. Daun Petai (Dokumen Pribadi)**

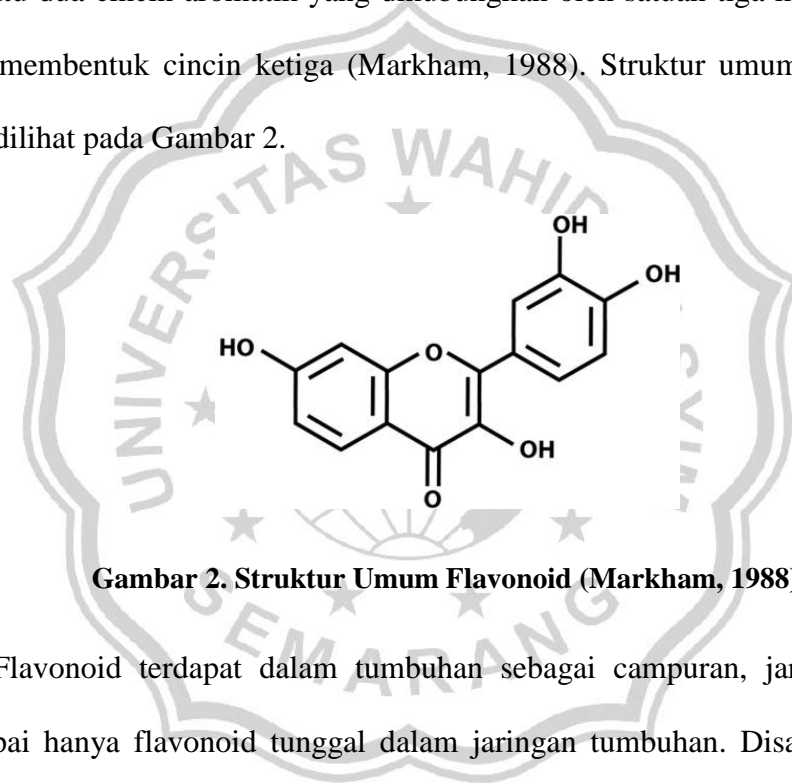
#### **4. Senyawa Flavonoid**

Flavonoid terdapat pada semua bagian tumbuhan termasuk daun, akar, kayu, kulit, tepung sari, nektar, bunga, buah buni, dan biji. Flavonoid dalam tumbuhan dalam bentuk O-glikosida dan C-glikosida. Bentuk O-glikosida, satu gugus hidroksil (-OH) flavonoid lebih terikat pada satu gula atau lebih dengan ikatan hemiasetal yang tidak tahan asam, biasanya pada posisi 3 atau 7. Bentuk C-glikosida, memiliki gula yang terikat pada atom karbon flavonoid dan terikat langsung pada inti benzena dengan ikatan karbon-karbon yang tahan asam, hanya ditemukan pada atom C nomor 6 dan 8 pada inti flavonoid (Markham, 1988).

Flavonoid mempunyai sejumlah gugus hidroksi atau gula sehingga flavonoid disebut senyawa polar. Flavonoid umumnya larut dalam pelarut polar

seperti etanol, metanol, aseton, dimetil-sulfoksida, dimetilformamida, dan air. Aglikon yang kurang polar seperti isoflavon, flavanon, dan flavon serta flavonol yang termetoksilasi cenderung lebih mudah larut dalam pelarut seperti eter dan kloroform (Markham, 1988).

Flavonoid adalah satu golongan fenol alam yang terbesar mengandung 15 atom karbon dalam inti dasarnya yang tersusun dalam konfigurasi C6-C3-C6 yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh satuan tiga karbon yang dapat membentuk cincin ketiga (Markham, 1988). Struktur umum flavonoid dapat dilihat pada Gambar 2.



**Gambar 2. Struktur Umum Flavonoid (Markham, 1988)**

Flavonoid terdapat dalam tumbuhan sebagai campuran, jarang sekali dijumpai hanya flavonoid tunggal dalam jaringan tumbuhan. Disamping itu, sering terdapat campuran yang terdiri atas flavonoid yang berbeda kelas (Harbone, 1987).

Flavonoid dapat dibagi menjadi beberapa sub-kelas, yaitu antosianidin, flavanol, flavanon, flavonol dan flavon. Beberapa studi menemukan bahwa makin banyak flavonoid yang dikonsumsi, makin rendah risiko timbulnya penyakit jantung koroner (Muchtadi, 2013).

## 5. Ekstraksi

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Simplisia yang diekstrak mengandung senyawa aktif yang dapat larut dan senyawa yang tidak dapat larut. Ekstraksi menggunakan pelarut ada dua, ekstraksi cara dingin dan ekstraksi cara panas. Ekstraksi cara dingin yaitu ekstraksi maserasi dan perkolasi. Ekstraksi cara panas yaitu ekstraksi Refluks, soxhlet, digesti, infus, dan dekok (Depkes RI, 2000).

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Prinsip ekstraksi perkolasi adalah menempatkan serbuk simplisia pada suatu bejana silonder yang bagian bawahnya diberi sekat berpori. Proses terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penampungan ekstrak), terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan (Depkes RI, 2000).

## 6. Spektrofotometri UV-Visibel

Spektrofotometri serapan merupakan pengukuran suatu interaksi antara radiasi elektromagnetik dan molekul atau atom dari suatu zat kimia. Teknik yang sering digunakan dalam analisis farmasi meliputi spektroskopi serapan ultraviolet, cahaya tampak, inframerah dan serapan atom. Pengukuran spektrofotometri didalam daerah cahaya tampak, semula disebut kolorimetri (Kemenkes, 2009).



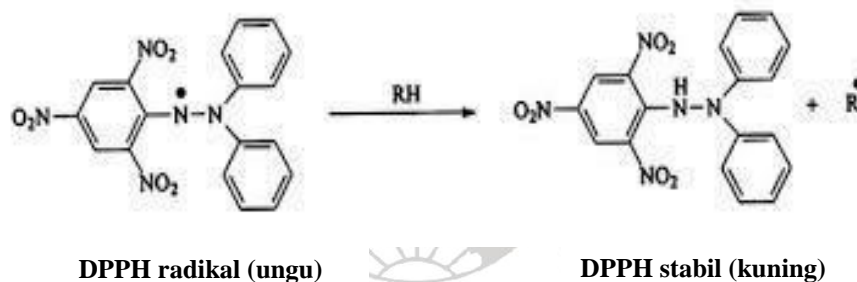
Prinsip kerja spektrofotometer adalah apabila cahaya berupa monokromatik maupun campuran jatuh pada suatu medium homogen, sebagian sinar masuk akan dipantulkan dan sebagian diserap dalam medium dan sisanya akan diteruskan. Nilai yang keluar dari cahaya yang diteruskan dinyatakan dalam nilai absorbansi (Gandjar dan Rohman, 2016).

Hukum Lambert-Beer menyatakan bahwa intensitas yang diteruskan oleh larutan zat penyerap berbanding lurus dengan tebal dan konsentrasi larutan (Gandjar dan Rohman, 2016). Untuk menghasilkan pengukuran yang baik, larutan yang diukur sebaiknya memberikan serapan sebesar 0,2-0,8 di daerah ultraviolet atau cahaya tampak. Harus diperhatikan agar pelarut yang digunakan bebas dari kontaminan yang memberikan serapan pada daerah spektra yang digunakan (Kemenkes, 2009). Sinar ultraviolet memiliki panjang gelombang antara 200-400 nm, sedangkan sinar tampak mempunyai panjang gelombang 400-750 nm (Gandjar dan Rohman, 2016).

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

Metode pengujian antioksidan menggunakan metode serapan terhadap radikal DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*) yang merupakan metode yang sederhana, cepat, mudah, cukup teliti, dan menggunakan sampel dalam jumlah yang sedikit dengan waktu yang singkat. Radikal DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*) merupakan suatu senyawa organik yang mengandung nitrogen tidak stabil dengan absorbansi kuat pada panjang gelombang maksimum 517 nm dan berwarna ungu gelap (Haeria dkk., 2016).

Struktur radikal DPPH terjadi delokalisasi elektron sehingga membuat larutan DPPH berwarna ungu gelap. Larutan DPPH yang dicampur dengan suatu zat yang dapat menyumbangkan atom hidrogen menimbulkan bentuk tereduksi, proses delokalisasi elektron akan terhenti dan membuat DPPH menjadi bentuk tereduksi sehingga DPPH kehilangan warna ungu. Intensitas warna ungu berbanding lurus dengan konsentrasi DPPH. Penurunan intensitas warna yang terjadi disebabkan oleh adanya penangkapan satu elektron oleh senyawa radikal DPPH dari zat antioksidan yang menyebabkan tidak adanya kesempatan elektron untuk beresonansi (Rosahdi dkk., 2013). Mekanisme reaksi radikal DPPH dengan senyawa antioksidan dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Mekanisme Reaksi Radikal DPPH dengan Antioksidan  
(Molyneux, 2004)

### 8. $IC_{50}$ (*Inhibitor Concentration*)

Parameter yang digunakan untuk menginterpretasikan hasil pengujian DPPH adalah  $IC_{50}$  (*Inhibitor Concentration*).  $IC_{50}$  merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi ekstrak yang mampu menghambat 50% oksidasi.

Nilai  $IC_{50}$  dapat dihitung menggunakan persamaan regresi linier antara konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan % aktivitas antioksidan sebagai sumbu y, sehingga diperoleh persamaan regresi  $Y = bx + a$ . Nilai  $IC_{50}$

berbanding terbalik dengan kemampuan zat atau senyawa yang bersifat antioksidan dimana semakin kecil nilai  $IC_{50}$  maka semakin besar aktivitas antioksidan (Molyneux, 2004). Klasifikasi aktivitas antioksidan menurut Haeria (2016) dapat dilihat pada Tabel I.

**Tabel I. Klasifikasi Aktivitas Antioksidan**

Nilai $IC_{50}$	Antioksidan
<50 ppm	Sangat kuat
50-100 ppm	Kuat
101-150 ppm	Sedang
>150 ppm	Lemah

#### **F. Landasan Teori**

Daun petai mengandung senyawa flavonoid, fenolik, saponin, steroid, dan terpenoid (Butarbutar dkk., 2016; Nafi'ah, dkk., 2017). Tumbuhan yang mengandung senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid dapat berfungsi sebagai antioksidan (Nishantini dkk., 2012). Senyawa flavonoid dapat diekstraksi menggunakan pelarut yang berbeda polaritasnya yaitu etanol, etil asetat, dan *n*-heksan dalam daun *Sesbania sesban* (L. Merr) (Fitriansyah dkk., 2017). Menurut penelitian Gul dkk. (2013) tentang kandungan flavonoid total pada daun *Abrus precatorius* hasil dari yang tertinggi sampai terendah yaitu flavonoid total ekstrak etil asetat, etanol, dan yang terakhir *n*-heksan. Menurut Prayogo (2017) perbedaan metode ekstraksi menghasilkan perbedaan kadar flavonoid, ditunjukkan dengan kadar flavonoid paling besar adalah metode perkolasi yang selanjutnya di ikuti metode maserasi, sokhletasi, dan refluks. Ekstraksi daun beluntas (*Plucia indica* L.) yang diekstraksi dengan berbagai metode ekstraksi menghasilkan kandungan

flavonoid total lebih besar pada metode ekstraksi perkolasi dari pada metode ekstraksi maserasi, sokhletasi, dan refluks (Safitri dkk., 2018). Ekstrak etanol daun petai (*Parkia speciosa* Hassk.) yang diekstraksi dengan metode *ultrasonic* dan *microwave* sangat potensial sebagai sumber antioksidan karena memiliki nilai  $IC_{50}$  41,39-66,0 ppm yang menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan kuat sampai sangat kuat (Buanasari dkk., 2017).

Daun *Phyllanthus embilca* yang mengandung senyawa flavonoid di ekstraksi dengan pelarut etanol, etil asetat, dan *n*-heksan terdapat sangat kuat antara flavonoid total dengan aktivitas antioksidan (Fitriansyah dkk., 2018). Menurut Dajanta dkk. (2013) terdapat korelasi yang kuat antara flavonoid total dengan aktivitas antioksidan biji kedelai.

### **G. Hipotesis**

Berdasarkan landasan teori di atas maka dapat diambil hipotesis yaitu:

1. Ekstrak etanol 96 %, ekstrak etil asetat, dan ekstrak *n*-heksan daun petai memiliki kandungan flavonoid.
2. Ekstrak etanol 96 %, ekstrak etil asetat, dan ekstrak *n*-heksan daun petai memiliki aktivitas antioksidan.
3. Terdapat korelasi antara kandungan flavonoid total ekstrak etanol 96 %, ekstrak etil asetat, dan ekstrak *n*-heksan daun petai terhadap aktivitas antioksidan.