

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Kubis merupakan sayuran yang sering dikonsumsi di Indonesia. Namun kubis bersifat mudah layu dan cepat membusuk sehingga kandungan zat aktif mengalami kerusakan yang mempengaruhi stabilitas (Suryani, 2004). Penelitian yang dilakukan Nurhaeni dkk. (2014) menunjukkan bahwa ekstrak etanol kubis merah mengandung senyawa flavonoid total sebesar 10,36 % b/b ER yang berfungsi sebagai antioksidan dengan nilai IC_{50} 266,19 $\mu\text{g/ml}$. Penyimpanan sayuran kubis bersifat mudah layu, rusak dan busuk (Pracaya, 1992). Flavonoid sangat sensitif terhadap panas dan dapat mengalami degradasi kimia selama proses yang melibatkan panas atau bahkan penyimpanan (Ananingsih *et al.*, 2013). Harga $t_{1/2}$ dari flavonoid selama penyimpanan lebih rendah pada suhu kamar 35°C dibandingkan pada suhu dingin 4°C (Mrmosanin *et al.*, 2014). Waktu penyimpanan dan suhu berpengaruh pada stabilitas senyawa bioaktif seperti total fenolat, flavonoid dan antioksidan dari selai jeruk yang diteliti. Sampel disimpan untuk jangka waktu 30 hari pada suhu 25°C dan 35°C. Hasil penelitian menunjukkan penurunan senyawa bioaktif secara signifikan (Djaoudene *et al.*, 2016).

Antioksidan merupakan suatu senyawa yang dapat menghambat radikal bebas disebabkan oleh oksigen reaktif sehingga mampu mencegah berbagai penyakit degeneratif (Sadewo, 2005). Pencarian antioksidan dari sumber alami menjadi perhatian untuk mengidentifikasi senyawa yang dapat bertindak sebagai

antioksidan yang cocok untuk menggantikan antioksidan sintetis (Wong *et al.*, 2005). Adanya efek samping dari antioksidan sintetis menyebabkan antioksidan alami menjadi alternatif yang sangat dibutuhkan (Karadeniz *et al.*, 2005).

Latar belakang diatas bertujuan untuk mengetahui pengaruh suhu dan lama penyimpanan terhadap kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol kubis merah (*Brassica oleracea var. capitata rubra*).

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang dapat dirumuskan masalah sebagai berikut :

1. Apakah ekstrak etanol kubis merah mengandung flavonoid, dan seberapa besar kadarnya?
2. Apakah suhu dan lama penyimpanan mempengaruhi kadar flavonoid dalam ekstrak etanol kubis merah?
3. Apakah suhu dan lama penyimpanan mempengaruhi aktivitas antioksidan dalam ekstrak etanol kubis merah?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Mengetahui flavonoid dalam ekstrak etanol kubis merah dan kadar flavonoidnya.
2. Mengetahui pengaruh suhu dan lama penyimpanan terhadap kadar flavonoid dalam ekstrak etanol kubis merah.
3. Mengetahui pengaruh suhu dan lama penyimpanan terhadap aktivitas antioksidan dalam ekstrak etanol kubis merah.

D. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian dapat memberikan informasi mengenai suhu dan lama penyimpanan yang baik untuk kubis merah.

E. Tinjauan Pustaka

1. Kubis

Kubis merupakan sayuran yang sering dikonsumsi di Indonesia (Suryani, 2004). Menurut Rukmana (2006), Wallis (1916) sistematika tanaman kubis berdasarkan klasifikasinya adalah :

Divisio : Spermatophyta
Sub divisio : Angiospermae
Kelas : Dicotyledonae
Ordo : Papavorales
Famili : Cruciferae (Brassicaceae)
Genus : *Brassica*
Spesies : *Brassica oleraceae* L. var. *capitata* L.



Gambar 1. Kubis Merah (*Brassica oleraceae* var. *Capitata rubra*) (Dokumen Pribadi)

Brassica merupakan salah satu genus yang memiliki keragaman spesies. Hampir 40 spesies dari *Brassica* tersebar diseluruh dunia. Sebagian besar tumbuh

didaerah beriklim sedang, dan beberapa diantaranya tumbuh di iklim subartik. Ketika berupa kecambah muda, berbagai tanaman kubis-kubisan akan sulit dibedakan, tetapi tidak lama kemudian masing-masing mengembangkan karakteristik yang dapat dibedakan (Vincent, 1998).

Dari klasifikasi ini turunlah varietas-varietas tanaman kol yang dibudidayakan, berikut merupakan kol varietas unggul (Novary, 1999):

a. Kubis putih (B.o. var. capitata L. f. alba DC.)

Kubis kepala bulat: krop bulat dan kompak, ukuran daun kecil sampai sedang, mempunyai daun luar berwarna hijau muda, memiliki teras atau hati kecil dan mempunyai batang pendek.

b. Kubis merah (B.o. var. capitata L. f. rubra.)

Krop berbentuk bulat kompak berwarna merah keunguan dan permukaan luar daun tertutup lapisan.

c. Kubis Savoy (B.o. var. sabauda L.)

Ciri-ciri memiliki daun keriting berbentuk babad/perut daging sapi, berwarna hijau, krop berbentuk bermacam-macam, bulat dan kerucut. Kubis ini biasa disebut kubis keriting/kubis babat.

Kubis merah mempunyai kandungan vitamin A, C, E, kalsium, flavonoid dan glikosida isotiosianat (Dalimartha, 2000). Di bidang kesehatan, dapat digunakan sebagai pencegah dan obat sariawan, penyakit beri-beri, penyakit Xerophthalmia, radang syaraf, lemahnya otot-otot, luka-luka pada tepi mulut, dermatitis bibir menjadi merah dan radang lidah, kandungan niacin dapat mencegah penyakit palagra dan pembentuk tulang dan gigi. Sayuran kubis dapat mensuplai kurang

lebih 25% vitamin C, lebih dari 30% vitamin A, 4-5% vitamin B, 5-6% kapur dan besi dari kebutuhan tubuh manusia (Pracaya, 1992).

2. Antioksidan

Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut dapat dihambat (Winarti, 2010). Antioksidan dibutuhkan tubuh untuk melindungi tubuh dari serangan radikal bebas. Antioksidan adalah suatu senyawa atau komponen kimia yang dalam kadar atau jumlah tertentu mampu menghambat atau memperlambat kerusakan akibat proses oksidasi. Tubuh manusia tidak mempunyai cadangan antioksidan dalam jumlah berlebih, sehingga apabila terbentuk banyak radikal maka tubuh membutuhkan antioksidan eksogen. Senyawa fenolik mempunyai berbagai efek biologis seperti aktivitas antioksidan melalui mekanisme sebagai pereduksi, penangkap radikal bebas, pengkkelat logam, peredam terbentuknya singlet oksigen serta pendonor elektron (Karadeniz *et al.*, 2005).

Mekanisme antioksidan secara umum adalah menghambat oksidasi asam lemak. Terdiri dari 3 tahapan yaitu inisiasi, propagasi, dan terminasi. Tahap inisiasi terjadi pembentukan radikal asam lemak, yaitu senyawa turunan asam lemak yang bersifat tidak stabil dan reaktif karena kehilangan satu atom hidrogen. Tahap propagasi terjadi saat radikal asam lemak bereaksi dengan oksigen sehingga membentuk radikal peroksi. Tahap terminasi terjadi saat radikal lebih lanjut akan peroksi menyerang asam lemak dan menghasilkan hidroperoksida dan radikal asam lemak baru. Hidroperoksida yang terbentuk bersifat tidak stabil dan

akan terdegradasi lebih lanjut menghasilkan senyawa karbonil rantai pendek seperti keton dan aldehid (Kumalaningsih, 2006).

Antioksidan berfungsi untuk mencegah penyakit kanker dan tumor, penyempitan pembuluh darah, penuaan dini, dan lain-lain (Tamat dkk., 2007). Antioksidan juga mampu menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif sehingga kerusakan sel dapat dicegah (Winarsi, 2007). Aktivitas antioksidan dipengaruhi oleh banyak faktor seperti kandungan lipid, konsentrasi antioksidan, suhu, tekanan oksigen, dan komponen kimia dari makanan secara umum seperti protein dan air. Proses penghambatan antioksidan berbeda-beda tergantung dari struktur kimia dan variasi mekanisme (Gordon *et al.*, 2001).

3. Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan salah satu bentuk senyawa oksigen reaktif, yang secara umum diketahui sebagai senyawa yang memiliki elektron yang tidak berpasangan. Radikal bebas adalah atom, molekul atau senyawa yang dapat berdiri sendiri yang mempunyai elektron tidak berpasangan, oleh karena itu 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) dalam tubuh (Winarti, 2010).

Radikal bebas yang biasa disebut senyawa oksigen reaktif (ROS). Radikal bebas di dalam tubuh merupakan bahan yang sangat berbahaya (Lampe, 1999). Dalam jumlah tertentu radikal bebas diperlukan untuk kesehatan, akan tetapi radikal bebas bersifat merusak dan sangat berbahaya. Fungsi radikal bebas dalam

tubuh adalah untuk melawan radang, membunuh bakteri dan mengatur tonus otot polos dalam organ dan pembuluh darah. Pembentukan radikal bebas terjadi secara terus menerus di dalam tubuh (Wijaya, 1996).

Menurut Winarti (2010), faktor yang menyebabkan timbulnya radikal bebas dalam tubuh antara lain sinar X, asap mobil, bahan kimia dalam makanan (pengawet, pewarna sintetik, residu pestisida, dan bahan tambahan makanan lainnya), bahan kimia termasuk obat-obatan.

4. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan kegiatan penarikan kandungan kimia yang terdapat pada simplisia. Ragam ekstraksi yang tepat sudah tentu bergantung pada tekstur dan kandungan air bahan tumbuhan yang diekstraksi pada jenis senyawa yang diisolasi (Harbone, 1996).

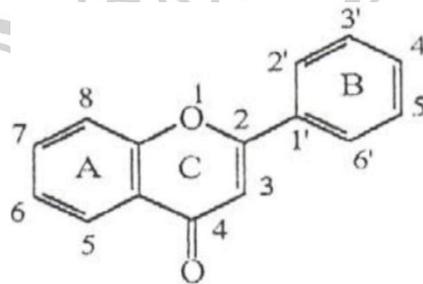
Proses pemisahan senyawa dari simplisia dilakukan dengan menggunakan pelarut tertentu sesuai dengan sifat senyawa yang akan dipisahkan. Pemisahan senyawa berdasarkan *like dissolved like* yang artinya suatu senyawa akan larut dalam pelarut yang sama tingkat kepolarannya. Bahan dan senyawa kimia akan mudah larut pada pelarut yang relatif sama kepolarannya (Depkes RI, 2000) .

Maserasi merupakan cara penyarian sederhana yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari selama beberapa hari pada temperatur kamar dan terlindung dari cahaya. Metode maserasi digunakan untuk menyari simplisia yang mengandung komponen kimia yang mudah larut dalam cairan penyari, tidak mengandung benzoin, stiraks dan lilin. Kerugian utama dari metode maserasi adalah memakan banyak waktu, pelarut yang digunakan cukup

banyak, dan besar kemungkinan beberapa senyawa hilang. Selain itu, beberapa senyawa mungkin saja sulit diekstraksi pada suhu kamar. Namun di sisi lain, metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil (Depkes RI, 1979).

5. Flavonoid

Flavonoid merupakan bagian fenol yang terdapat pada semua bagian tumbuhan termasuk akar, daun, kayu, bunga, buah, dan biji (Harborne, 1987). Flavonoid termasuk senyawa polar yang larut dalam pelarut polar seperti metanol, etanol, butanol, aseton, umumnya dimetil formamida (DMF), dimetilsulfoksida (DMSO), dan air. Gula yang terikat pada flavonoid (bentuk umum yang ditemukan) menyebabkan flavonoid lebih mudah larut dalam air, sehingga campuran pelarut di atas dengan air merupakan pelarut yang lebih baik untuk glikosida. Inti dasar flavonoid mengandung 15 atom karbon yang tersusun dalam konfigurasi C₆-C₃-C₆, terdiri dari dua cincin aromatik yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga (Markham, 1988).



Gambar 2. Struktur Flavonoid (Markham, 1988)

Berbagai jenis senyawa, kandungan dan aktivitas antioksidatif flavonoid sebagai salah satu kelompok antioksidan alami yang terdapat pada sereal, sayur-sayuran dan buah, telah banyak dipublikasikan. 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 (Cuppett et al.,1954).

Flavonoid merupakan pembersih radikal bebas yang efektif secara *in vitro*. Tetapi Walaupun mengonsumsi flavonoid dalam jumlah tinggi, konsentrasi flavonoid dalam plasma dan intraseluler manusia hanya sekitar 100 – 1000 kali lebih rendah dibandingkan dengan konsentrasi antioksidan lain seperti vitamin C (Robinson, 1995).

6. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan suatu teknik pemisahan dengan menggunakan adsorben (fase stasioner) berupa lapisan tipis seragam yang disalutkan pada permukaan bidang datar berupa lempeng kaca, pelat aluminium, atau pelat plastik. Pengembangan kromatografi terjadi ketika fase gerak tertapis melewati adsorben (Gandjar dan Rohman, 2007).

KLT digunakan secara luas untuk analisis solute-solute organic terutama dalam bidang biokimia, farmasi, klinis, forensic, baik untuk analisis kualitatif dengan cara membandingkan nilai Rf solut dengan nilai Rf senyawa baku atau untuk analisis kualitatif. Penggunaan umum KLT adalah untuk menentukan banyaknya komponen dalam campuran, identifikasi senyawa, memantau berjalannya suatu reaksi, menentukan efektifitas pemurnian, menentukan kondisi yang sesuai untuk kromatografi kolom, serta untuk memantau kromatografi kolom, melakukan screening sampel untuk obat (Gandjar dan Rohman, 2007).

7. Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri serapan adalah pengukuran serapan radiasi elektromagnetik panjang gelombang tertentu yang sempit, mendekati monokromatik, yang diserap zat. Pengukuran serapan dapat dilakukan pada daerah ultraviolet (panjang gelombang 190 nm – 380 nm) atau pada daerah cahaya tampak (panjang gelombang 380 nm – 780 nm). Meskipun spektrum pada daerah ultraviolet dan daerah cahaya tampak dari suatu zat tidak khas, tetapi sangat cocok untuk penetapan kuantitatif, dan untuk beberapa zat berguna untuk membantu identifikasi (Depkes RI, 1979).

Hal-hal yang harus diperhatikan dalam analisis spektrofotometri UV/Vis antara lain (Gandjar dan Rohman, 2007) :

a. Pemilihan panjang gelombang maksimum

Panjang gelombang yang digunakan untuk memperoleh panjang gelombang serapan maksimum, dilakukan dengan membuat kurva hubungan antara absorbansi dengan panjang gelombang dari suatu larutan baku pada konsentrasi tertentu.

b. Pembuatan Kurva Kalibrasi

Dibuat seri larutan baku dari zat yang akan dianalisis dengan berbagai konsentrasi. Masing – masing absorbansi larutan dengan berbagai konsentrasi diukur, kemudian dibuat kurva yang merupakan hubungan antara absorbansi dengan konsentrasi. Bila hukum *Lambert-Beer* terpenuhi maka kurva kalibrasi berupa garis lurus.

c. Pembacaan absorbansi sampel atau cuplikan

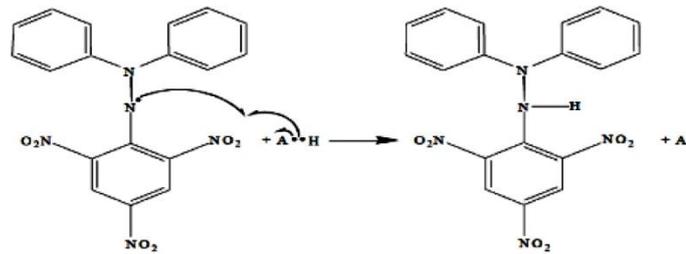
Absorbansi yang terbaca pada spektrofotometer hendaknya antara 0,2 sampai 0,6.

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

Metode yang paling umum digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan adalah dengan menggunakan radikal bebas DPPH. Pengukuran antioksidan dengan metode DPPH adalah metode pengukuran antioksidan yang sederhana, cepat dan tidak membutuhkan banyak reagen seperti metode lain. Hasil pengukuran dengan metode DPPH menunjukkan kemampuan antioksidan sampel secara umum, tidak berdasarkan pada jenis radikal yang dihambat (Juniarti dkk., 2009). Metode lain selain DPPH membutuhkan reagen kimia yang cukup banyak, waktu analisis yang lama, biaya yang mahal dan tidak selalu dapat diaplikasikan pada semua sampel (Badarinath *et al.*, 2010).

Larutan DPPH berperan sebagai radikal bebas yang akan bereaksi dengan senyawa antioksidan sehingga DPPH akan berubah menjadi 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil yang bersifat non-radikal. Radikal DPPH adalah suatu senyawa organik yang mengandung nitrogen tidak stabil dengan absorbansi kuat pada λ_{max} 517 nm dan berwarna ungu gelap. Setelah bereaksi dengan senyawa antioksidan, DPPH tersebut akan tereduksi dan warnanya akan berubah menjadi kuning. Perubahan tersebut dapat diukur dengan spektrofotometer, dan diplotkan terhadap konsentrasi. Penurunan intensitas warna yang terjadi disebabkan oleh berkurangnya ikatan rangkap terkonjugasi pada DPPH. Hal ini dapat terjadi

apabila adanya penangkapan satu elektron oleh zat antioksidan, menyebabkan tidak adanya kesempatan elektron tersebut untuk beresonansi (Windono dkk., 2001).



Gambar 3. Reaksi DPPH dengan Antioksidan (Windono dkk., 2001)

Keterangan :

DPPH : Diphenylpicrylhydrazil (ungu)

A-H : Antioksidan

DPPH-H : Diphenylpicrylhidrazin (kuning)

7. Aktivitas Antioksidan

Parameter interpretasi hasil pengujian DPPH adalah dengan nilai % inhibisi. Persentase inhibisi (aktivitas antioksidan) yaitu banyaknya aktivitas antioksidan yang menangkap radikal bebas DPPH (Kartika, 2010). 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

Uji penapisan fitokimia ekstrak kubis merah mengandung flavonoid. Terdapatnya flavonoid merupakan indikasi adanya aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} kubis merah mentah sebesar 35,84 $\mu\text{g/mL}$ (Puspitasari, 2009). Menurut

Wansyah (2013) rata-rata masa penyimpanan kubis pada pasar tradisional Peunayong hanya mencapai 2-3 hari.

Kadar flavonoid dalam selai jeruk yang disimpan selama 30 hari pada suhu 25°C dan 35°C mengalami menurun pada akhir penyimpanan sebesar 19% dan 30% (Djaoudene and Louaileche, 2016). Hasil penelitian Dwiyanti dan Nurani (2014), menunjukkan bahwa sampel teh rosela yang dibuat dengan lama penyeduhan yaitu 20 menit, 30 menit, maupun 40 menit, yang disimpan dalam suhu ruangan mengalami penurunan aktivitas antioksidan setiap harinya. Aktivitas antioksidan tomat menurun pada penyimpanan hari ke-3, naik pada hari ke-6, kemudian kembali turun pada hari ke-9, sedangkan kandungan flavonoid tomat menurun sejak penyimpanan hari ke-12 (Eveline dkk., 2014).

G. Hipotesis

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