

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Berbagai penyakit seperti kanker kulit, diabetes mellitus, kegagalan ginjal, penyakit kardiovaskuler, katarak dan penuaan dini telah diketahui erat kaitannya dengan radikal bebas (Astawan, 2004). Radikal bebas merupakan atom atau molekul yang sifatnya sangat tidak stabil, sehingga untuk memperoleh pasangan elektron senyawa ini sangat reaktif dan merusak sel. Radikal bebas dapat merusak tiga jenis senyawa yang penting untuk mempertahankan integritas sel, yaitu kerusakan pada membran sel, protein sel, dan DNA (Yuslianti, 2018). Tubuh manusia memerlukan suatu substansi penting, yaitu antioksidan yang dapat membantu melindungi tubuh dari serangan radikal bebas dan meredam dampak negatifnya (Winarsi, 2007). Antioksidan memiliki kemampuan mendonorkan elektron dan dapat berfungsi sebagai agen pereduksi sehingga dapat mengkhelat ion metal dan mengurangi potensi radikal dalam tubuh (Vaya dan Aviram, 2001).

Flavonoid adalah senyawa fenol alam yang terdapat dalam hampir semua tumbuhan (Markham, 1988). Sejumlah tanaman obat yang mengandung flavonoid telah dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan (Miller, 1996). Efek antioksidan dari senyawa flavonoid ini disebabkan oleh penangkapan radikal bebas melalui donor atom hidrogen dari gugus hidroksil flavonoid (Amic *et al.*, 2003).

Fraksinasi merupakan metode partisi cair-cair dengan tujuan untuk memisahkan zat aktif berdasarkan polaritasnya, sehingga senyawa yang bersifat

polar akan tertarik ke pelarut polar begitu pula senyawa non polar akan tertarik ke pelarut non polar (Harborne, 1987). Fraksi-fraksi yang diperoleh menunjukkan sifat kimia dan fisika senyawa yang lebih khas daripada ekstrak awalnya (Sarker *et al.*, 2006).

Menurut Hanifa *et al.*, (2015) kandungan flavonoid total fraksi daun paitan secara berurutan dari yang paling besar adalah fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air. Penelitian Zhang *et al.*, (2014) ekstrak etanol daun *Zanthoxylum bungeanum* memiliki kandungan 9 jenis senyawa flavonoid.

Ekstrak metanol daun kersen dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan, aktivitas antioksidan pada daun kersen tua lebih kuat daripada daun kersen muda (Kuntorini *et al.*, 2013). Menurut penelitian Senet *et al.*, (2017) menyimpulkan bahwa buah kersen memiliki kandungan fenolik dan flavonoid, selain itu buah kersen juga memiliki aktivitas antioksidan. Metanol bila dicerna tubuh akan menjadi formaldehide atau formalin yang beracun, berbahaya bagi kesehatan. Reaksinya dapat merusak jaringan saraf pusat, otak, pencernaan, hingga kasus kebutaan, metanol sangat berbahaya bagi kesehatan bahkan bisa menyebabkan kematian (Depkes RI., 2014).

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka perlu dilakukan penelitian untuk menguji aktivitas antioksidan dan penetapan kadar flavonoid fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura* L.).

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka dapat dirumuskan masalah penelitian yaitu :

1. Berapakah kadar flavonoid total fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air ekstrak etanol daun kersen?
2. Berapakah nilai aktivitas antioksidan fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air ekstrak etanol daun kersen yang dinyatakan dengan IC_{50} ?
3. Apakah kadar flavonoid total pada daun kersen (*Muntingia calabura* L.) berkorelasi terhadap aktivitas antioksidan?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah :

1. Mengetahui kadar flavonoid total fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air ekstrak etanol daun kersen.
2. Mengetahui nilai aktivitas antioksidan fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air ekstrak etanol daun kersen yang ditunjukkan dengan nilai IC_{50} .
3. Mengetahui korelasi kadar flavonoid total daun kersen (*Muntingia calabura* L.) terhadap aktivitas antioksidan.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan tambahan informasi kepada masyarakat mengenai penggunaan daun kersen sebagai sumber antioksidan alami, sehingga dapat digunakan sebagai pengobatan alternatif untuk mencegah terjadinya penyakit degeneratif, serta sebagai bahan referensi bagi penelitian selanjutnya terkait dengan penggunaan bahan daun kersen.

E. Tinjauan Pustaka

1. Kersen (*Muntingia calabura* L.)

Kersen adalah nama sejenis pohon dan buahnya yang kecil dan manis. Kersen atau talok (kerukup siam di negara Malaysia) adalah nama sejenis pohon dan buahnya yang kecil dan manis, batang tegak dan bulat, daun tunggal (Warintek, 2012). Nutrisi tanaman kersen per 100 g adalah protein, lemak, serat, kalsium, fosfor, karoten, vitamin B1, B2, B3 dan C. Kandungan senyawa aktif tanaman kersen adalah ester, alcohol, flavonoid, sesquiterpenoid dan derivat furan. Manfaat tanaman kersen adalah sebagai antioksidan, antikanker, antinosiseptik, antibakteri, dan lain-lain (Lim, 2012).

a. Klasifikasi

Klasifikasi tanaman kersen menurut USDA (2017) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Subkingdom : Tracheobionta
Super Divisi : Spermatophyta
Divisi : Magnoliophyta
Class : Magnoliopsida
Subclass : Dilleniidae
Ordo : Malvales
Famili : Elaeocarpaceae
Genus : *Muntingia* L.
Species : *Muntingia calabura* L.

b. Morfologi

Kersen (*Muntingia calabura* L.) tergolong pohon kecil hingga sedang, tinggi mencapai 12 meter, pohon kebanyakan berupa perdu yang besar, batang kadang lurus, bebas cabang relatif pendek, pangkal batang biasanya sedikit berbanir. Kayu terasnya sangat keras, agak liat berwarna coklat. Tajuk selalu hijau, percabangan mendatar membentuk naungan, ranting berambut halus. Daun kersen (Gambar 1) memiliki letak berseling mendatar, bentuk lanset, ujung runcing, ukuran daun 1-4x4-14 cm, permukaan bawah berbulu.



Gambar 1. Daun kersen (dokumen pribadi)

Bunga dalam berkas berisi 1-3 kuntum, terletak di ketiak sebelah atas daun, bertangkai panjang, berkelamin dua, mahkota bertepi rata, bundar telur terbalik, putih tipis, benang sari berjumlah banyak 10 sampai lebih 100 helai. Pada umumnya hanya satu dua bunga yang menjadi buah dalam tiap berkasnya. Deskripsi buah dan benih Buah buni bertangkai, bentuk bulat, warna buah masak merah, diameter 1-1,5 cm. Biji terdapat

di dalam daging seperti pasir, dalam buah terdapat beberapa ribu biji yang kecil. Jumlah buah masak terdapat 624 - 630 butir/kg. Pembungaan dan pembuahan Kersen (*Muntingia calabura* L.) dapat berbunga dan berbuah setiap tahun. Keadaan musim berbunga dan berbuah hampir terus menerus tidak menentu (Kosasih *et al.*, 2013).

c. Pemanfaatan

Pemanfaatan Tanaman ini pada umumnya dimanfaatkan buahnya, selain daging buahnya manis juga mengandung protein. Buah kersen sangat digemari anak-anak, rasanya enak dan sering dijual di pasarpasar, bahkan dari Sumatera selatan sering di ekspor ke Singapura. Kayunya termasuk kelas kayu awet, dapat digunakan untuk tonggak dan tiang, pagar, bantalan jalan kereta api, jembatan. Di Jawa Barat digunakan sebagai gagang palu dan kapak (Kosasih *et al.*, 2013).

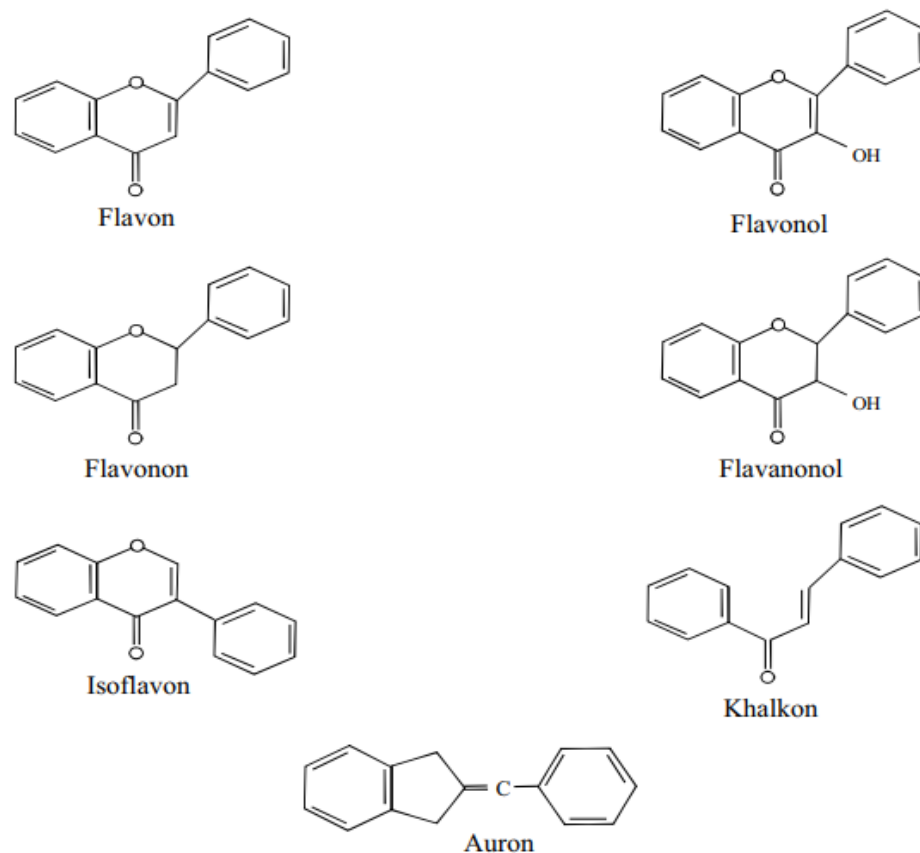
d. Kandungan Kimia Daun Kersen

Ekstrak daun Kersen (*Muntingia calabura*L.) mempunyai kandungan metabolit sekunder berupa alkaloid, steroid, flavonoid, dan saponin. Keberadaan metabolit sekunder tersebut menunjukkan bahwa daun kersen mempunyai efek farmakologis dan berpotensi untuk dijadikan sebagai bahan obat-obatan (Setyowati dan Cahyanto, 2016).

2. Flavonoid

Flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol yang tersebar di alam, dan berasal dari tumbuhan tinggi. Menurut perkiraan, kira-kira 2% dari seluruh karbon yang difotosintesis oleh tumbuhan atau kira-kira 1 x

109ton/tahun) diubah menjadi flavonoid atau senyawa yang berikatan erat dengannya. Istilah flavonoid diberikan untuk senyawa-senyawa fenol yang berasal dari kata flavon, yaitu nama dari salah satu jenis flavonoid yang terbesar jumlahnya dalam tumbuhan. Struktur dan jenis-jenis flavonoid bisa dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Struktur dan jenis-jenis flavonoid (Markham, 1988)

Flavonoid merupakan senyawa polar karena mempunyai sejumlah gugus hidroksil yang tak tersulih atau suatu gula, sehingga akan larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton, dimetilsulfoksida, dimetilformamida, dan air. Adanya gula yang terikat pada flavonoid

cenderung menyebabkan flavonoid lebih mudah larut dalam air dan dengan demikian campuran pelarut di atas dengan air merupakan pelarut yang lebih baik untuk glikosida. Sebaliknya, 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 merupakan kandungan khas tumbuhan hijau dengan mengecualikan alga. Flavonoid sebenarnya terdapat pada semua bagian tumbuhan termasuk daun, akar, kayu, kulit, tepung sari, nektar bunga, buah buni dan biji. Hanya sedikit saja catatan yang melaporkan adanya flavonoid pada hewan, misalnya dalam kelenjar bau berang-berang “propolis” (sekresi lebah) dan di dalam sayap kupu-kupu; itupun dengan anggapan bahwa flavonoid tersebut berasal dari tumbuhan yang menjadi makanan hewan tersebut dan tidak dibiosintesis di dalam tubuh mereka (Markham,1988).

Flavonoid terdapat dalam tumbuhan sebagai campuran; jarang sekali dijumpai hanya flavonoid tunggal dalam jaringan tumbuhan. Di samping itu, sering terdapat campuran yang terdiri atas flavonoid yang berbeda kelas. Penggolongan jenis flavonoid dalam jaringan tumbuhan mula-mula didasarkan kepada telaah sifat kelarutan dan reaksi warna. Kemudian diikuti dengan pemeriksaan ekstrak tumbuhan yang telah dihidrolisis, secara kromatografi satu arah, dan pemeriksaan ekstrak etanol secara dua arah. Akhirnya, flavonoid dapat dipisahkan dengan cara kromatografi. Komponen masing-masing diidentifikasi dengan membandingkan kromatografi dan spektrum, dengan

memakai senyawa pembanding yang sudah dikenal. Berikut ini merupakan jenis-jenis flavonoid (Markham,1988).

1) Flavon dan Flavonol

Flavon dan Flavonol Flavon terdapat sebagai glikosida. Jenis yang paling umum adalah 7- glukosida, contohnya luteolin 7-glikosida. Flavon juga terdapat yang terikat pada gula melalui ikatan karbon sederetan glikosiflavon, salah satu contohnya adalah orientin, yaitu luteolin 8-C-glukosida. Ikatan karbon-karbon yang sangat tahan terhadap glikolisis asam sehingga membedakan C-glikosida dengan O-glikosida yang lebih mudah terhidrolisis. Flavon sangat tersebar luas dalam tumbuhan, baik sebagai kopigmen antosianin dalam daun bunga maupun dalam daun tumbuhan tinggi.

2) Isoflavon

Isoflavon termasuk ke dalam golongan flavonoid minor karena penyebarannya yang terbatas. Isoflavon merupakan suatu isomer 20 flavon, tetapi jauh lebih langka. Hampir semua terdapat dalam anak suku Leguminosae (Papilionoideae). Isoflavon dapat dipilih menjadi tiga kelas berdasarkan sifat fisiologinya. Senyawa seperti 7,4-dihidroksiisoflavon (daidzein) dan 5,7,4-trihidroksiisoflavon (genistein) merupakan estrogen asam lemah, terdapat dalam semanggi. Isoflavon rumit, misalnya rotenon, merupakan insektisida alam kuat, sementara kumestan yang sekerabat, misalnya pisatin, adalah fitoaleksin, yaitu senyawa pelindung yang terbentuk dalam tumbuhan sebagai tanggapan terhadap serangan penyakit.

3) Khalkon dan Auron

Khalkon dan auron merupakan antoklor, yaitu pigmen kuning yang dapat dideteksi berdasarkan kenyataan bahwa bila daun bunga yang berwarna kuning diasapi dengan asap basa dari sebatang cerutu, atau diuapi dengan uap amonia warnanya berubah menjadi jingga atau merah. Senyawa ini terdapat khas dalam *Compositae* (terutama *Coreopsis*).

4) Flavonon

Flavonon merupakan isomer khalkon dan kedua kelas senyawa ini berantar-alih-bentuk secara *in vitro*. Khalkon sering kali dijumpai di alam bersama-sama dengan analog flavon, tetapi sebaliknya belum tentu demikian.

5) Xanton

Xanton ialah pigmen fenol kuning yang reaksi warnanya serta gerakan kromatografinya serupa dengan flavonoid. Karena alasan tersebut deteksi dan analisisnya dimasukkan dalam bagian ini. Secara kimia xanthon berbeda dengan flavonoid dan mudah dibedakan dari flavonoid berdasarkan sifat spektrumnya yang khas.

6) Antosianin

Antosianin merupakan pewarna yang paling penting dan paling tersebar luas dalam tumbuhan. Pigmen yang berwarna kuat dan larut dalam air ini adalah penyebab hampir semua warna merah jambu, merah marak, 21 merah, merah senduduk, ungu dan biru dalam daun bunga, daun, dan buah pada tumbuhan tinggi.

3. Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan atom atau molekul yang memiliki elektron bebas yang tak berpasangan (*unpaired electron*). Hal ini dapat dilihat misalnya pada air (H_2O). Ikatan atom oksigen dengan hidrogen pada air merupakan ikatan kovalen, yaitu ikatan kimia yang timbul karena sepasang elektron dimiliki bersama oleh dua atom. Elektron yang tidak memiliki pasangan cenderung akan menarik elektron dari senyawa lainnya, sehingga elektron tersebut akan dimiliki bersama oleh dua atom atau senyawa dan terbentuk suatu senyawa radikal bebas baru yang lebih reaktif. Reaktivitas yang meningkat tersebut menyebabkan senyawa radikal bebas menjadi lebih mudah untuk menyerang sel-sel sehat dalam tubuh. Jika pertahanan tubuh lemah maka sel-sel tersebut menjadi sakit atau rusak (Uppu *et al.*, 2010).

Radikal bebas tersebut memiliki 2 sifat yaitu:

- a. Reaktivitasnya yang tinggi karena akan cenderung menarik elektron dari senyawa yang lainnya lagi.
- b. Memiliki kemampuan untuk mengubah suatu molekul, atom, atau senyawa untuk menjadi suatu radikal baru (Morello *et al.*, 2002).

Target utama radikal bebas adalah protein, karbohidrat, asam lemak tak jenuh dan lipoprotein, serta unsur-unsur DNA. Dari molekul-molekul target tersebut, yang paling rentan terhadap serangan radikal bebas adalah asam lemak tak jenuh. Senyawa radikal bebas di dalam tubuh dapat merusak asam lemak tak jenuh ganda pada membran sel sehingga dinding sel menjadi rapuh, merusak basa DNA sehingga mengacaukan sistem genetika, dan berlanjut pada

pembentukan sel kanker. Radikal bebas akan terus mencari elektron dari molekul-molekul di sekitarnya dan apabila tidak dikendalikan reaksi berantai ini dapat berlangsung secara terus menerus (Halliwell dan Gutteridge, 2000).

4. Antioksidan

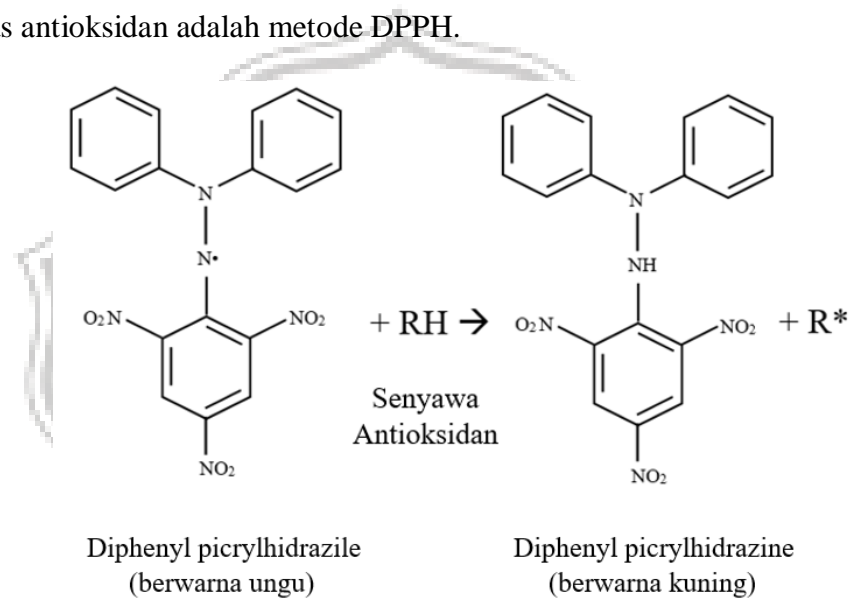
Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (*electro donor*) atau reduktan. Senyawa ini memiliki berat molekul kecil, tetapi mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi, dengan cara mencegah terbentuknya radikal. Antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Akibatnya, kerusakan sel dapat dihambat (Winarsi, 2007).

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antioksidan diklasifikasikan menjadi dua kategori, yaitu antioksidan pencegah dan antioksidan pemutus rantai. Antioksidan pencegah bekerja dengan menghambat pembentukan *reactive oxygen species* (ROS), seperti enzim katalase, peroksidase, superoksida dismutase, dan transferin. Antioksidan pemutus rantai merupakan senyawa yang menangkap radikal oksigen kemudian memutus rangkaian rantai reaksi radikal, contohnya vitamin C, vitamin E, asam urat, bilirubin, polifenol, dan sebagainya. Antioksidan pemutus rantai memiliki dua jalur reaksi. Jalur pertama merupakan jalur transfer atom hidrogen dengan mekanisme radikal oksigen menangkap hidrogen dari antioksidan sehingga terbentuk kompleks antioksidan radikal yang bersifat stabil. Jalur kedua, antioksidan mendeaktivasi radikal bebas dengan transfer elektron tunggal. Transfer elektron tunggal

sangat dipengaruhi oleh kestabilan pelarut pada muatan tertentu (Ou *et al.*, 2002).

5. Pengujian Antioksidan dengan Metode DPPH

Beberapa metode uji yang digunakan untuk melihat aktivitas antioksidan, Metode conjugated diene, Metode penangkapan radikal hidroksil, Metode *Ferric Reducing Ability of Plasma* (FRAP), Metode *Trapping Antioxidant Parameter* (TRAP). Salah satu metode yang digunakan untuk pengujian aktivitas antioksidan adalah metode DPPH.



Gambar 3. Reduksi DPPH dari senyawa antioksidan (Prakash, 2001)

Metode DPPH didasarkan pada kemampuan antioksidan untuk menghambat radikal bebas dengan mendonorkan atom hidrogen, Prinsip reaksi dari metode ini adalah penangkapan atom hidrogen dari antioksidan oleh radikal bebas. Mekanisme yang terjadi adalah reaksi penangkapan atom hidrogen dari antioksidan oleh radikal bebas DPPH. Reduksi DPPH dari senyawa antioksidan dapat dilihat pada gambar 3. Perubahan warna ungu DPPH menjadi ungu kemerahan sampai kuning, dimanfaatkan untuk

mengetahui aktivitas senyawa antioksidan. Metode ini menggunakan kontrol positif sebagai pembanding untuk mengetahui aktivitas antioksidan sampel. Kontrol positif ini dapat berupa tokoferol, BHT, dan vitamin C. Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH menggunakan 1,1-difenil-2-pikrilhidra-zil sebagai radikal bebas. Prinsipnya adalah reaksi penangkapan hidrogen oleh DPPH dari senyawa antioksidan, yang mengubahnya menjadi 1,1-difenil-2-pikrilhidrazin diikuti dengan perubahan warna ungu dari larutan DPPH menjadi kuning bening. Klasifikasi aktivitas antioksidan seperti pada table I. Daya antioksidan semakin kuat bila nilai IC_{50} semakin kecil (Molyneux, 2004).

Tabel I. Tingkat kekuatan antioksidan dengan metode DPPH (Blois, 2008)

Intensitas	Nilai IC_{50}
Sangat kuat	< 50 $\mu\text{g}/\text{Ml}$
Kuat	50-100 $\mu\text{g}/\text{mL}$
Sedang	101-150 $\mu\text{g}/\text{mL}$
Lemah	> 150 $\mu\text{g}/\text{mL}$

F. Landasan Teori

Menurut Hanifa *et al.*, (2015) kandungan flavonoid total ekstrak daun paitan secara berurutan dari yang paling besar adalah fraksi n-heksan 8,201 mg QE/gram ekstrak, fraksi etil asetat 5,224 mg EQ/gram ekstrak, dan fraksi air 1,163 mg QE/gram ekstrak. Fraksi n-heksan diperoleh kadar flavonoid total lebih tinggi dibandingkan fraksi etil asetat dan fraksi air. Penelitian Zhang *et al.* (2014) ekstrak etanol daun *Zanthoxylum bungeanum* memiliki kandungan 9 jenis senyawa flavonoid antara lain, yaitu quercetin (1), afzelin (2), quercitrin (3), trifolin (4), quercetin-3-O-b-D-glukosida (5), isorhamnetin 3-O-Sebuah-L rhamnoside (6), hyperoside (7), vitexin (8) dan rutin (9). Menurut penelitian

Pasaribu *et al.*, (2014) golongan senyawa flavonoid yang bersumber dari fraksi etil asetat daun kerehau (*Callicarpa longifolia* L.) diduga adalah golongan flavonol.

Hasil penelitian Kuntorini *et al.*, (2013) menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun kersen muda memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 21,786 ppm, sedangkan daun kersen tua memiliki aktivitas antioksidan sebesar 18,214 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak tersebut mempunyai aktivitas antioksidan yang kuat. Pengukuran aktivitas antioksidan pada kontrol vitamin C memiliki IC_{50} sebesar 2,72 ppm dan BHT sebesar 5,36 ppm lebih kuat dari ekstrak metanol daun kersen muda dan tua.

Menurut Esmaeili *et al.*, (2015) aktivitas antioksidan memiliki korelasi yang signifikan terhadap kadar flavonoid total pada berbagai pelarut (metanol, etil asetat, kloroform, dan n-heksan) yang memiliki kepolaran berbeda dari daun semanggi merah.

G. Hipotesis

Berdasarkan landasan teori di atas maka dapat diambil hipotesis yaitu:

1. Fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air ekstrak etanol daun kersen memiliki kandungan flavonoid.
2. Fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air ekstrak etanol daun kersen memiliki aktivitas antioksidan.
3. Terdapat korelasi antara kandungan flavonoid total fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air ekstrak etanol daun kersen terhadap aktivitas.