

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Negara Indonesia memiliki berbagai macam jenis flora, baik yang sudah teridentifikasi maupun belum teridentifikasi. Menurut Kusmana dan Hikmat (2015), Indonesia memiliki kurang lebih 20.000 jenis flora yang tersebar diberbagai daerah, dan sebesar 40% adalah tumbuhan endemik atau asli dari Indonesia. Bagian dari tumbuhan banyak digunakan dalam kehidupan sehari-hari seperti bahan bangunan, mebel, alat rumah tangga, bahan masakan, obat-obatan, dan lain – lain. Pada zaman dahulu banyak orang sudah menggunakan tumbuhan sebagai alternatif pengobatan tradisional, tetapi seiring berkembangnya zaman tradisi itu sudah tidak banyak digunakan.

Kandungan radikal bebas dalam tubuh mempengaruhi manfaatnya dalam tubuh. Apabila jumlah radikal bebas normal maka akan membawa manfaat kesehatan seperti melawan peradangan, mengendalikan peregangan otot dalam pembuluh darah, dan organ dalam tubuh, serta dapat menyebabkan stres oksidatif apabila kandungan radikal bebas dalam tubuh berlebihan. Radikal bebas memiliki reaktivitas yang tinggi karena kecenderungannya untuk menarik elektron dan mengubah molekul menjadi radikal bebas yang baru, dan apabila senyawa radikal baru tersebut bertemu dengan zat lain maka juga akan bereaksi menjadi senyawa radikal bebas yang baru lagi, hal tersebut dapat terjadi secara terus menerus dan berulang atau biasa disebut dengan reaksi berantai/kontinu. Proses perendaman dalam antioksidan dapat menghentikan reaksi berantai tersebut atau pembentukan radikal bebas yang baru (Yuslianti, 2018).

Radikal bebas juga dikenal sebagai *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan *Reactive Nitrogen Species* (RNS). Jenis ROS yaitu anion superoksida (O_2^-), hidrogen peroksida (H_2O_2), dan radikal hidroksil ($OH^\cdot$). Dan RNS yaitu oksida nitrat (NO), peroksinitrit ($ONOO^-$). Sumber radikal bebas dapat

dibedakan menjadi 2, yaitu radikal bebas endogen dan eksogen. Radikal bebas endogen merupakan bentuk respon dari peristiwa biokimia yang terjadi di dalam tubuh. Radikal bebas endogen dapat terbentuk dari sisa mekanisme oto-oksidasi, sistem transpor elektron, dan aktivitas oksidasi (siklooksigenase, lipogenase, dehidrogenase, dan peroksidase). Radikal bebas eksogen diakibatkan karena pencemaran lingkungan, polutan, radiasi, ozon, pestisida, sinar ultraviolet (UV) yang berlebih, bahan kimia makanan, dan minuman yang tidak sehat (Sayuti dan Rina, 2015).

Radikal bebas bersifat reaktif, akan tetapi dalam tubuh manusia juga memiliki kadar radikal bebas. Jika kadar radikal bebas dalam tubuh normal, maka akan membantu beberapa fisiologis di dalam tubuh. Akan tetapi, jika kadar radikal bebas berlebih dan tidak dilakukan penstabilan, maka dapat merusak makromolekul pembentuk sel, seperti protein, karbohidrat, lemak, dan asam nukleat, sehingga dapat menyebabkan penyakit degeneratif. Jika tubuh memiliki senyawa radikal bebas yang berlebih atau melebihi batas proteksi antioksidan seluler, maka dibutuhkan antioksidan tambahan dari luar untuk menetralkan radikal bebas yang terbentuk (Sayuti dan Rina, 2015).

Reaksi oksidasi merupakan hal yang penting dalam kehidupan, tetapi apabila berlebihan juga dapat bersifat perusak. Pada tumbuhan dan hewan hidup juga memelihara sistem kompleks enzim antioksidan yang dapat menangkal stres oksidatif dalam tubuh. Akan tetapi, jika kadar antioksidan yang rendah, maka dapat menyebabkan stres oksidatif yang dapat merusak bahkan membunuh sel dalam tubuh. Antioksidan dapat dikatakan mudah untuk dioksidasi, radikal bebas akan mengoksidasi antioksidan dan dapat melindungi molekul lain dalam sel dari kerusakan yang diakibatkan oksidasi oleh radikal bebas atau oksigen reaktif (Werdhasari, 2014).

Antioksidan merupakan zat penting dalam tubuh karena antioksidan dapat menghambat atau menetralkan reaksi oksidasi yang disebabkan karena adanya radikal bebas yang berlebihan (Sayuti dan Rina, 2015). Berdasarkan

sumbernya, antioksidan dibedakan menjadi antioksidan endogen dan eksogen (Parwata, 2016).

Antioksidan endogen bersumber langsung dari dalam tubuh atau juga biasa disebut dengan enzim antioksidan. Contoh dari antioksidan endogen adalah superoksida dismutase (SOD), katalase (CAT) dan glutathione peroksidase (GPx). Apabila produksi radikal bebas dalam tubuh berlebih, maka antioksidan yang dihasilkan oleh tubuh tidak cukup untuk menangkal terbentuknya stres oksidatif sehingga membutuhkan antioksidan dari luar tubuh/antioksidan eksogen.

Antioksidan eksogen dibedakan menjadi dua, yaitu alami dan sintetis (Parwata, 2016). Antioksidan eksogen alami didapatkan dari hasil ekstraksi atau mengonsumsi bahan alami, seperti hasil dari tumbuhan (Abbas, 2017). Antioksidan eksogen sintetis didapatkan dari sintesis bahan kimia yang biasanya dimasukkan ke dalam makanan (Gulcin *et al.*, 2012). Senyawa antioksidan yang terdapat pada tumbuhan sudah dibuktikan oleh beberapa penelitian yang mengatakan bahwa senyawa antioksidan dapat melindungi tubuh dari bahaya radikal bebas, contohnya seperti vitamin, fenol dan flavonoid. Antioksidan banyak digunakan dalam bahan suplemen makanan dengan tujuan untuk menjaga kesehatan tubuh dan mencegah penyakit degeneratif (Sayuti dan Rina, 2015).

Senyawa fenolik merupakan metabolit sekunder yang diproduksi dalam asam shikimat tanaman dan pentosa fosfat melalui metabolisme fenilpropanoid. Senyawa fenolik dikategorikan menjadi tujuh kelompok, yaitu flavonoid, asam fenolik, tanin (sederhana dan terkondensasi), stilben, kumarin, lignan, dan lignin. Flavonoid dapat mencegah kerusakan akibat radikal bebas dengan berbagai cara, salah satunya adalah dengan menangkal radikal bebas secara langsung. Flavonoid dioksidasi oleh radikal, sehingga menghasilkan radikal yang lebih stabil dan kurang reaktif. Dengan kata lain, flavonoid dapat menstabilkan spesies oksigen reaktif dengan bereaksi dengan senyawa reaktif radikal. Karena reaktivitas yang tinggi dari gugus hidroksil dari flavonoid. Senyawa flavonoid terdapat di seluruh bagian

tanaman, seperti daun, akar, batang, kulit, tepung sari, nektar, bunga, buah, dan biji (Banjarnahor dan Artanti, 2014).

Senyawa antioksidan dari tumbuhan dapat diperoleh dengan melakukan ekstraksi menggunakan pelarut. Pada masing – masing pelarut memiliki perbedaan tingkat polaritas, sehingga akan didapatkan perbedaan jumlah dan jenis senyawa metabolit sekunder (Fajarullah *et al.*, 2014). Selektivitas, kelarutan, biaya, dan keamanan harus dipertimbangkan dalam memilih pelarut yang digunakan dalam ekstraksi. Pelarut dengan nilai polaritas dekat/sama dengan polaritas zat terlarut cenderung bekerja lebih baik (Zhang *et al.*, 2018). Contoh urutan pelarut yang paling polar adalah etanol, etil asetat, dan n-heksana. Saat melakukan penelitian, perbedaan jenis pelarut yang digunakan akan mempengaruhi kandungan senyawa bioaktif yang dihasilkan (Hidayah *et al.*, 2014).

Pelarut polar seperti etanol sering digunakan dalam uji untuk mengidentifikasi senyawa flavonoid. Selain itu etanol memiliki gugus hidrogen dari gugus hidroksil senyawa fenolik yang menyebabkan peningkatan kelarutan senyawa fenolik dalam etanol (Suhendra *et al.*, 2019). Pelarut semi polar seperti etil asetat, mampu menarik senyawa termasuk likopen, b-karoten, vitamin C, padatan terlarut dalam total fenol. Pelarut non polar seperti n-heksana, dapat mengekstrak likopen, triterpenoid, dan sebagian kecil karotenoid (Ma'sum *et al.*, 2014).

Tanaman obat sudah lama diteliti dan dilaporkan sebagai pusat prospektif senyawa antioksidan alami, khususnya metabolit sekunder tanaman, yaitu senyawa fenolik dan flavonoid yang dihasilkan oleh tanaman sebagai pertahanan diri. Fenolik dan flavonoid umumnya dikenal sebagai molekul fitokimia terbesar dengan sifat antioksidan dari tanaman (Andreu *et al.*, 2017 dan Wang *et al.*, 2016).

Okra termasuk dalam famili Malvaceae. Tanaman okra dibedakan menjadi dua jenis berdasarkan warnanya, yaitu okra merah dan okra hijau. Okra merah (*Abelmoschus esculentus*) adalah salah satu jenis tumbuhan yang memiliki kandungan antioksidan yang tinggi. Okra merah adalah jenis

tumbuhan yang diduga berasal dari Afrika yang biasanya dikonsumsi sebagai sayuran. Okra merupakan sumber protein, karbohidrat, mineral, vitamin, dan serat pangan (Bawa dan Badrie, 2016). Selain itu okra juga memiliki komponen bioaktif seperti senyawa flavonoid dari golongan kuersetin dan fitosterol. Kuersetin merupakan komponen bioaktif, yang memiliki peran sebagai antioksidan yang dapat mencegah, melindungi dari dampak stres oksidatif (Roy *et al.*, 2014).

Menurut beberapa penelitian, seperti pada penelitian Adelakun *et al.* (2011), Geng *et al.* (2015), dan Pukalskiene *et al.* (2017) telah membuktikan bahwa terdapat kandungan antioksidan pada okra. Graham *et al.* (2017), menyatakan kandungan total fenol dan aktivitas antioksidan biji okra dari genotip yang berbeda, didapatkan hasil bahwa pemanfaatan biji okra sebagai teh atau diet yang dapat memberikan manfaat antioksidan. Menurut penelitian Liao *et al.* (2012), terdapat kandungan dalam persentase yang berbeda dari total fenolat, total kandungan flavonoid, dan sifat antioksidan pada bagian bunga, buah, daun, dan biji pada tanaman okra. Tandi *et al.* (2020), menyatakan bahwa ekstrak etanol buah okra memiliki kandungan metabolit sekunder, yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin. Evonella (2018), menyatakan bahwa ekstrak n-heksana daun okra merah memiliki kandungan metabolit sekunder jenis steroid/triterpenoid, ekstrak etanol dan etil asetat daun okra merah mengandung metabolit sekunder jenis alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan glikosida.

Faisal (2019), menyatakan bahwa nilai IC_{50} ekstrak etanol buah okra merah memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat dengan nilai <50 ppm, yaitu 27,15 ppm melalui uji dengan metode DPPH. Wahyuningsih *et al.* (2021), menyatakan nilai IC_{50} pada buah okra merah, menggunakan tiga jenis ekstrak, yaitu ekstrak etanol memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat (39,8 ppm), ekstrak etil asetat memiliki aktivitas antioksidan kuat (89,5 ppm), dan ekstrak n-heksana memiliki aktivitas antioksidan sedang (113,4 ppm). Delviana (2017), menyatakan bahwa ekstrak etanol daun okra merah memiliki nilai IC_{50} 75,68 ppm dengan kategori aktivitas antioksidan kuat.

Berdasarkan penjelasan di atas, sudah terdapat penelitian yang menguji kandungan pada tanaman okra (*A. esculentus*), khususnya pada bagian daun dan buah. Akan tetapi belum ditemukan penelitian yang menguji kandungan antioksidan dan uji fitokimia pada batang dan akar tanaman okra merah (*A. esculentus*). Okra merah memiliki kadar antosianin yang lebih tinggi dibandingkan dengan okra hijau, dimana antosianin adalah golongan flavonoid yang memiliki ciri warna merah pada tumbuhan. Okra merah memiliki kadar antosianin 43,01% lebih tinggi jika dibandingkan dengan okra hijau (Aplugi *et al.*, 2019). Buah okra merah juga memiliki kandungan kuersetin yang lebih tinggi daripada okra hijau, yaitu 3,965 mg/g sampel pada okra merah dan 1,849 mg/g sampel pada okra hijau (Utami, 2018). Berdasarkan alasan tersebut penulis tertarik untuk meneliti potensi antioksidan pada ekstrak etanol (polar), etil asetat (semi polar), n-heksana (non polar) dari buah, daun, batang, dan akar tanaman okra merah (*Abelmoschus esculentus*), sekaligus dapat membandingkan kandungan antioksidan pada beberapa bagian tanaman okra merah (*Abelmoschus esculentus*), dan dapat memanfaatkan bagian selain buah dari okra merah (*Abelmoschus esculentus*). Ekstraksi yang digunakan adalah ekstraksi dingin yaitu maserasi, karena jika pada penelitian juga menguji kandungan dari senyawa flavonoid. Senyawa flavonoid merupakan senyawa yang tidak tahan panas dan dapat mengalami perubahan struktur sehingga menghasilkan hasil uji ekstrak yang rendah (Ilmiah *et al.*, 2017).

Ada beberapa metode uji yang digunakan untuk menguji kandungan antioksidan pada tumbuhan. Seperti metode ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*), metode TRAP (*Total Radical-Trapping Antioxidant Parameter*), metode TEAC (*Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*), metode PRSC (*Peroxyl Radical Scavenging Capacity*), metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), metode TOSC (*Total Oxyradical Scavenging Capacity*), metode FRAP (*Ferric Reducing / Antioxidant Power*), dan metode ABTS (2,2-azinobis-3-Ethylbenzothiazoline-6-Sulfonic) (Hidayah *et al.*, 2014). Pada penelitian ini menggunakan metode DPPH sebagai uji

antioksidan dengan melihat besarnya nilai IC_{50} . Menggunakan metode DPPH karena uji tersebut merupakan metode yang mudah dilakukan, cepat, relatif murah, sensitif terhadap konsentrasi sampel yang kecil, dan apabila terdapat kesalahan mudah untuk diulang (Rahmawati *et al.*, 2015). Metode DPPH memiliki kemampuan mendeaktivasi radikal bebas berdasarkan transfer atom hidrogen ataupun yang mentransfer elektron untuk mendeaktivasi radikal bebas. Struktur dari kedua radikal tersebut mendukung untuk menjadi reseptor elektron maupun hidrogen dari senyawa antioksidan yang terdapat pada sampel (Gulcin, 2012).

1.2 Rumusan Masalah

1. Berapakah nilai *Inhibitory concentration* (IC_{50}) pada ekstrak etanol, etil asetat, n-heksana dari daun, buah, batang, dan akar okra merah (*A. esculentus*) yang diperoleh dari pengujian dengan metode DPPH?
2. Bagaimana kemampuan antioksidan di antara buah, daun, batang, dan akar tumbuhan okra merah (*A. esculentus*) dari ekstrak etanol, etil asetat, dan n-heksana?
3. Berapakah kadar total fenolik dan total flavonoid pada ekstrak etanol, etil asetat, n-heksana dari buah, daun, batang, dan akar okra merah (*A. esculentus*)?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Menentukan besarnya nilai *Inhibitory concentration* (IC_{50}) pada ekstrak etanol, etil asetat, n-heksana dari daun, buah, batang, dan akar okra merah (*A. esculentus*) yang diperoleh dari pengujian dengan metode DPPH.
2. Membandingkan kemampuan antioksidan di antara daun, buah, batang, dan akar tumbuhan okra merah (*A. esculentus*) dari ekstrak etanol, etil asetat, dan n-heksana.

3. Menentukan kadar total fenolik dan total flavonoid pada ekstrak etanol, etil asetat, n-heksana dari buah, daun, batang, dan akar okra merah (*A. esculentus*).

1.4 Asumsi Penelitian

Ketika tubuh membutuhkan tambahan antioksidan dari luar tubuh, maka kebutuhan antioksidan dapat diperoleh dari ekstrak tumbuhan, salah satunya dengan ekstrak okra merah (*A. esculentus*) yang diduga memiliki kemampuan antioksidan pada bagian daun, buah, batang, dan akar. Potensi antioksidan pada okra merah akan diuji dengan metode DPPH yang dilihat berdasarkan besarnya nilai IC_{50} .

Penelitian ini menggunakan 3 jenis dengan polaritas yang berbeda, yaitu etanol (polar), etil asetat (semi polar), dan n-heksana (non polar). Ketiga jenis pelarut berbeda digunakan untuk mengetahui pengaruh polaritas pada pelarut terhadap serapan kandungan metabolit sekunder dari hasil ekstraksi.

Diasumsikan bahwa persentase aktivitas antioksidan tertinggi, nilai IC_{50} paling rendah, kandungan total fenolik, dan total flavonoid paling tinggi terdapat pada ekstrak dengan pelarut etanol. Hal tersebut dibuktikan dengan uji pada ekstrak etanol, etil asetat, n-heksana dari daun, buah, batang, dan akar *A. esculentus* yang diduga memiliki komponen bioaktif fenol dan flavonoid yang mudah larut dalam pelarut polar, yaitu etanol.

1.5 Hipotesis Penelitian

1. Variasi sampel yang digunakan dan polaritas pelarut mempengaruhi kadar senyawa pada ekstrak etanol, etil asetat, n-heksana dari daun, buah, batang, dan akar okra merah (*A. esculentus*).
2. Penggunaan pelarut pada konsentrasi yang berbeda mempengaruhi kadar total flavonoid, total fenolik, nilai persentase aktivitas antioksidan, dan nilai IC_{50} pada ekstrak etanol, etil asetat, n-heksana dari daun, buah, batang, dan akar okra merah (*A. esculentus*).

1.6 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi secara ilmiah mengenai potensi antioksidan yang terdapat pada ekstrak etanol, etil asetat, n-heksana dari buah, daun, batang, dan akar okra merah (*A. esculentus*), sehingga sebagian besar organ pada tanaman *A. esculentus* dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan dan dapat memberikan data dasar untuk dikembangkan sebagai bahan penelitian selanjutnya.