

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Radikal bebas merupakan molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbit atom terluar sehingga bersifat sangat reaktif dan tidak stabil. Ketidakstabilan ini disebabkan karena radikal bebas memiliki kecenderungan untuk mencari pasangan elektron dari molekul lain. Hal ini dapat mengakibatkan timbulnya reaksi berantai sehingga terbentuk radikal bebas yang semakin banyak. Radikal bebas dapat bersumber dari dalam tubuh (endogen) dan luar tubuh (eksogen). Radikal bebas endogen terbentuk sebagai hasil reaksi dalam tubuh, seperti reaksi autooksidasi, oksidasi enzimatis, dan *respiratory burst* (Irianti *et al.*, 2017), sedangkan radikal bebas eksogen dapat terbentuk sebagai hasil proses metabolisme terhadap paparan lingkungan seperti radiasi sinar ultraviolet, logam berat, polusi udara, asap rokok, alkohol, pestisida, dan anestesi (Khaira, 2010). Kadar radikal bebas berlebih yang masuk ke dalam tubuh akan menyerang makromolekul pembentuk sel, seperti protein, karbohidrat, lemak, dan DNA (*deoxyribo nucleic acid*) sehingga dapat mengimplikasi berbagai kerusakan struktur dan fungsi jaringan, serta timbulnya penyakit. Radikal bebas dapat menyebabkan pemutusan ikatan rantai DNA dan mengganggu proses pembelahan sel, perubahan abnormal pada sel ini dapat memicu penyakit kanker (Suryo, 2008).

Dalam mengatasi produksi dan akumulasi radikal bebas yang berlebih, tubuh akan melakukan mekanisme pertahanan dengan memproduksi antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang berperan sebagai penetralisir radikal bebas dan pencegah kerusakan yang timbul akibat aktivitas radikal bebas. Antioksidan dapat menghambat proses oksidasi karena memiliki struktur kimiawi yang memungkinkan antioksidan untuk memberikan elektron kepada molekul radikal bebas tanpa mempengaruhi fungsinya. Hal ini dapat menyebabkan pemutusan ikatan berantai pada radikal bebas. Antioksidan memiliki sifat yang mudah teroksidasi dan berperan sebagai reduktor kuat sehingga antioksidan yang bereaksi dengan radikal

bebas ini akan membentuk molekul yang stabil dan tidak reaktif. Tingkat efektivitas suatu antioksidan bergantung pada daya oksidasinya, apabila suatu antioksidan mudah teroksidasi, maka antioksidan tersebut akan semakin efektif (Khaira, 2010).

Antioksidan yang bersumber dari dalam tubuh disebut antioksidan endogen atau enzim antioksidan. Antioksidan endogen dapat berupa enzim superoksida dismutase (SOD), glutathion peroksidase (GPx), dan katalase. Ketidakseimbangan produksi radikal bebas dengan kadar antioksidan dapat memicu suatu kondisi yang disebut stress oksidatif (Rush *et al.*, 2005). Kondisi ini dapat terjadi karena kadar radikal bebas yang masuk melebihi kadar antioksidan dalam tubuh. Kurangnya kadar antioksidan endogen dalam tubuh dapat diatasi dengan bantuan pasokan antioksidan dari luar tubuh yang disebut antioksidan eksogen.

Antioksidan eksogen dapat diproduksi secara sintetik dan alami. Contoh antioksidan eksogen sintetik, antara lain butil hidroksi anisol (BHA), butil hidroksi toluen, propil galat, dan tersier butil hidroksi quinon (TBHQ) (Parwata, 2016). Penggunaan antioksidan sintetik bagi pertahanan tubuh masih menjadi perdebatan karena pertimbangan efek samping yang ditimbulkan. Antioksidan yang diproduksi secara sintetik memungkinkan terbentuknya molekul yang bersifat toksik dan karsinogenik selama proses degradasi. Hal ini dibuktikan pada penelitian Amarowicz *et al.* (2000) yang menunjukkan bahwa penggunaan bahan sintetik sebagai sumber antioksidan dapat mengakibatkan risiko terkena penyakit kanker. Oleh sebab itu, penggunaan antioksidan eksogen yang bersumber dari bahan alami mulai dimanfaatkan sebagai alternatif pengganti antioksidan eksogen sintetik.

Antioksidan alami umumnya didapatkan dari tanaman. Adapun jenis tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan eksogen alami sangat beragam, salah satunya adalah tanaman obat keluarga (TOGA). TOGA sudah banyak dimanfaatkan masyarakat sebagai cara tradisional dalam penyembuhan penyakit secara turun menurun. Kurangnya penelitian yang membahas mengenai efektivitas dan efek samping penggunaan TOGA sebagai obat, berakibat pada kurangnya pemanfaatan tanaman ini sebagai komponen pengobatan dalam pelayanan kesehatan secara formal. Hal ini menunjukkan bahwa perlunya penelitian lebih lanjut untuk mengetahui potensi tanaman obat keluarga

(TOGA) sebagai alternatif pengobatan. Salah satu TOGA yang perlu dieksplorasi lebih dalam mengenai manfaatnya adalah tanaman kenikir.

Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) adalah tanaman herbal yang tumbuh melimpah dan mudah ditemui di berbagai lokasi, khususnya di wilayah beriklim tropis. Tanaman kenikir merupakan tanaman obat keluarga yang kerap dimanfaatkan sebagai bahan makanan, penambah nafsu makan, dan penghilang bau badan (DLH, 2019). Pemanfaatan tanaman kenikir di masyarakat menunjukkan adanya potensi mikronutrien yang terkandung di dalamnya sehingga diharapkan dapat berperan sebagai sumber antioksidan eksogen alami.

Bagian tubuh tanaman yang kerap diteliti sebagai sumber antioksidan eksogen alami yakni berupa batang, akar, daun, buah, bunga, biji, dan sebagainya. Berdasarkan penelitian Kharismanda *et al.* (2021), dibuktikan bahwa kadar senyawa bioaktif pada organ daun lebih banyak jika dibandingkan organ batang dan bunga. Hal ini dapat dilihat pada kondisi fisik hasil pengujian skrining fitokimia yang menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun tanaman kenikir memiliki warna yang lebih pekat pada uji alkaloid dan triterpenoid, endapan yang lebih banyak pada uji alkaloid, dan gelembung udara yang lebih banyak pada uji saponin. Proses fotosintesis yang bertempat pada daun memungkinkan daun untuk mengandung dan menyimpan kadar senyawa bioaktif yang lebih banyak dibandingkan organ tanaman lainnya (Li *et al.*, 2020).. Potensi ekstrak daun kenikir sebagai sumber antioksidan eksogen alami perlu diteliti dengan melakukan pengujian aktivitas antioksidannya

Nilai IC_{50} diperlukan untuk mengetahui tingkat aktivitas antioksidan. Nilai IC_{50} merupakan konsentrasi ekstrak sampel yang dapat menekan 50% radikal bebas DPPH sehingga dapat menunjukkan efektivitas sampel dalam menangkal radikal bebas (Widyasanti *et al.*, 2016). Pada penelitian Rahmat (2015) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kenikir dengan variasi konsentrasi di atas 10 $\mu\text{g/mL}$, menghasilkan antioksidan kuat dengan nilai IC_{50} sebesar 52,81 ppm. Penelitian Aqila (2021) menunjukkan bahwa ekstrak daun zaitun dalam pelarut etanol dengan variasi konsentrasi 6,25, 10, 12,5, 15, 25, 35, 50, dan 75 $\mu\text{g/mL}$ dapat menghasilkan aktivitas antioksidan sangat kuat. Pada ekstrak daun zaitun ini didapatkan nilai IC_{50}

rendah sehingga pengujian dengan variasi konsentrasi yang sama pada ekstrak daun kenikir berpotensi memberikan pengaruh signifikan dan diketahui datanya sebagai bukti konfirmatori.

Jenis pelarut mempengaruhi aktivitas antioksidan dan kandungan senyawa bioaktif dalam sampel Aqila (2021). Pengaruh jenis pelarut dengan polaritas berbeda, menarik untuk diketahui. Penggunaan kloroform dan etanol sebagai dua jenis pelarut yang berbeda pada penelitian ini ditujukan untuk mengkonfirmasi dan membedakan pengaruh polaritas pelarut, antara pelarut polar dan non-polar.

Setelah pengujian aktivitas antioksidan, dilakukan identifikasi golongan dan jenis senyawa bioaktif guna mengetahui lebih lanjut kandungan dalam sampel ekstrak daun kenikir dengan jenis pelarut yang berbeda. Kelarutan zat dipengaruhi oleh polaritas pelarut (Dzakwan dan Widodo, 2019), pelarut polar akan melarutkan senyawa polar dan ionik dengan lebih baik dibandingkan pelarut non polar. Etanol merupakan pelarut bersifat polar yang mampu melarutkan senyawa polar, seperti senyawa fenolik, antosianin, saponin, tanin, terpenoid, xantoxilin, totarol, kuakinoid, lakton, flavon, fenon, polifenol (Widyawati *et al*, 2014), sedangkan kloroform merupakan senyawa yang bersifat non polar yang mampu mengekstrak senyawa triterpenoid, steroid, fenol, dan flavonoid (Dewitasari, 2020). Hal ini menunjukkan bahwa adanya perbedaan jenis polaritas pelarut memungkinkan adanya perbedaan golongan dan jenis senyawa bioaktif yang terlarut dalam ekstrak sampel daun kenikir.

Metode identifikasi senyawa bioaktif bervariasi, di antaranya kromatografi lapis tipis (KLT) (Hostettman, 1995), *flash chromatography column* (Still *et al.*, 1978), *gass chromatography-mass spectrometry* (Johnson *et al.*, 2011), dan sebagainya. Metode GC-MS dipilih karena memiliki resolusi dan sensitivitas tinggi, membutuhkan jumlah sampel sedikit, membutuhkan waktu pemisahan zat yang relatif cepat, dan efisien (Khoierunnisa, 2017).

Penelitian terkait identifikasi senyawa bioaktif dari ekstrak daun kenikir telah cukup banyak dilakukan, namun tentunya sampel daun kenikir yang digunakan juga berbeda – beda. Akumulasi senyawa bioaktif sangat tergantung pada berbagai faktor lingkungan seperti cahaya, suhu, air tanah, kesuburan dan

salinitas tanah (Rachmawati, 2020). Pada penelitian ini, diambil sampel daun kenikir dari kebun kenikir yang berlokasi di Kelurahan Tanah Kali Kedinding, Kecamatan Kenjeran, Kota Surabaya. Kenikir dari lokasi ini dipilih karena mudah didapatkan dan kelimpahannya cukup tinggi. Berdasarkan kondisi yang telah dipaparkan, maka dilakukan penelitian untuk mengeksplorasi hasil ilmiah dan mendapatkan data guna melengkapi *database*.

1.2 Rumusan Masalah

Penelitian ini dirancang untuk menjawab permasalahan sebagai berikut:

1. Berapakah persentase inhibisi aktivitas antioksidan (%) dan nilai IC_{50} yang terdapat pada ekstrak daun kenikir dalam pelarut etanol dan kloroform?
2. Apa sajakah golongan dan jenis senyawa bioaktif yang terdapat pada ekstrak daun kenikir dalam pelarut etanol dan kloroform?
3. Apakah terdapat perbedaan interval penambahan persentase inhibisi aktivitas antioksidan, nilai IC_{50} , golongan, dan jenis senyawa bioaktif antara ekstrak daun kenikir yang dilarutkan dalam pelarut etanol dengan kloroform?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini yaitu:

1. Mengetahui persentase inhibisi aktivitas antioksidan (%) dan nilai IC_{50} yang terdapat pada ekstrak daun kenikir dalam pelarut etanol dan kloroform
2. Mengetahui golongan dan jenis senyawa bioaktif yang terdapat pada ekstrak daun kenikir dalam pelarut etanol dan kloroform
3. Mengetahui ada tidaknya perbedaan interval penambahan persentase inhibisi aktivitas antioksidan, nilai IC_{50} , golongan, dan jenis senyawa bioaktif antara ekstrak daun kenikir yang dilarutkan dalam pelarut etanol dengan kloroform.

1.4 Asumsi Penelitian

Penelitian yang dilakukan oleh Rustini dan Ni (2017) menunjukkan bahwa ekstraksi daun ungu (*Graptophyllum pictum*) menggunakan jenis pelarut dengan polaritas berbeda, memiliki pengaruh terhadap aktivitas antioksidan yang

dihasilkan. Daun ungu yang diekstrak dengan etanol memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kuat dibandingkan etil asetat, butanol, dan kloroform. Selain itu, kelarutan senyawa juga dipengaruhi oleh polaritas pelarut (Dzakwan dan Widodo, 2019). Senyawa bioaktif memiliki kemampuan sebagai sumber antioksidan (Prabowo *et al.*, 2014). Kandungan senyawa bioaktif berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan, semakin tinggi kandungan senyawa bioaktif, maka akan memberikan efek penghambatan radikal bebas yang semakin besar (Dewi *et al.*, 2007). Maka, diasumsikan bahwa faktor-faktor yang berpengaruh, seperti jenis pelarut dengan polaritas dan konsentrasi yang berbeda akan menghasilkan perbedaan interval penambahan persentase inhibisi aktivitas antioksidan, nilai IC_{50} , serta golongan dan jenis senyawa bioaktif pada ekstrak sampel daun kenikir.

1.5 Hipotesis Penelitian

Jika jenis kepolaran dan konsentrasi pelarut memberikan pengaruh terhadap aktivitas antioksidan dan kandungan senyawa bioaktif, maka akan terdapat perbedaan interval penambahan persentase inhibisi aktivitas antioksidan, nilai IC_{50} , serta golongan dan jenis senyawa bioaktif pada ekstrak sampel daun kenikir dalam pelarut etanol dan pelarut kloroform.

1.6 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah, wawasan ilmiah, dan melengkapi *database* terkait potensi aktivitas antioksidan, golongan, dan jenis senyawa bioaktif dari ekstrak daun kenikir dalam pelarut etanol dan pelarut kloroform.