

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. LATAR BELAKANG MASALAH

Indonesia terletak di daerah tropis dan sangat kaya dengan berbagai spesies flora. Dari 40 ribu jenis flora yang tumbuh di dunia, 30 ribu diantaranya tumbuh di Indonesia. Sekitar 96% telah dibudidayakan dan sisanya sekitar 4% masih tumbuh liar di hutan-hutan. Dari yang telah dibudidayakan, lebih dari 940 jenis digunakan sebagai obat tradisional. Beberapa tanaman banyak mempunyai khasiat atau manfaat, dimana di dalam tanaman tersebut mengandung zat yang dapat berfungsi sebagai antioksidan.

Reactive Oxygen Species (ROS) atau radikal bebas adalah atom atau molekul yang tidak stabil dan sangat reaktif yang dapat merupakan produk samping dari reaksi biologis, hasil dari metabolit oksigen ataupun produk samping dari faktor eksogen. Ketidakstabilan dan reaktivitas tinggi ini dapat disebabkan oleh karakteristik atom atau molekulnya yang memiliki elektron yang tidak berpasangan pada orbital luarnya. Secara *in vivo*, beberapa ROS yang diproduksi dalam jumlah normal sesungguhnya penting dalam fisiologi sel, seperti halnya sel darah putih menghasilkan hidroperoksida untuk membunuh beberapa jenis bakteri dan fungi. Namun, jika ROS diproduksi secara terus menerus dan tidak dihentikan, maka mengakibatkan jumlahnya berlebihan di dalam tubuh, dimana ROS akan mencari pasangan elektronnya secara radikal dari molekul lain yang mengakibatkan kerusakan oksidatif jaringan yang sering dikenal sebagai stress oksidatif (Moller *et al.*, 1996; Sharma & Agarwa, 1996). Stress oksidatif ini akan menimbulkan beberapa penyakit degeneratif seperti

kanker, jantung, katarak, penuaan dini, diabetes, hipertensi, serta penyakit lainnya (Aqil *et al.*, 2006).

Pada kondisi stres oksidatif, radikal bebas akan menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid membran sel dan merusak membran sel. Membran sel ini sangat penting bagi fungsi reseptor dan fungsi enzim, sehingga terjadinya peroksidasi lipid membran sel oleh radikal bebas dapat mengakibatkan hilangnya fungsi seluler secara total (Singh *et al.*, 1992). Stres oksidatif juga merupakan modulator yang penting pada perkembangan berbagai penyakit seperti diabetes melitus dan kanker. Pada pasien yang terkena penyakit diabetes melitus dengan kadar glukosa darah yang tinggi akan cenderung mengalami efek sekunder seperti peningkatan radikal bebas di dalam tubuh dan dapat menyebabkan penurunan antioksidan (Dianitami, 2009).

Pada penderita penyakit kanker, sel kanker mengakibatkan adanya serangan radikal bebas dalam sel yang mengakibatkan terjadinya pertumbuhan dan perkembangan sel yang abnormal yang dapat menyebabkan kerusakan pada jaringan (Swartz, 1979). Adanya berbagai aksi destruktif dari ROS ini, menyebabkan tubuh memerlukan suatu substansi penting yang mampu melindungi tubuh dari serangan radikal bebas dan dapat meredam dampak negatif yang disebabkan oleh ROS yaitu antioksidan (Kikuzaki *et al.*, 2002).

Antioksidan adalah senyawa kimia pemberi elektron yang dapat meredam radikal bebas dengan cara memutuskan atau menghentikan reaksi berantai yang disebabkan oleh radikal bebas yang terdapat di dalam tubuh (Prakash, 2001). Konsumsi makanan yang mengandung antioksidan dapat meningkatkan status imunologi, menghambat timbulnya penyakit degeneratif dan mencegah penuaan dini (Donatus, 2001; Krinsky, 1988). Berdasarkan penelitian, dampak negatif apabila mengkonsumsi antioksidan

secara berlebihan baik dari makanan maupun suplemen dapat meningkatkan terjadinya resiko kerusakan pada hati (pembengkakan organ hati dan mempengaruhi aktivitas enzim di dalam hati), karsinogenik terhadap efek reproduksi, gangguan pada aksi sel-sel sistem imun terhadap infeksi dan kerusakan DNA (Youngson, 2005). Antioksidan dapat dibagi berdasarkan sumber (alam dan buatan), fungsinya (antioksidan pencegah dan antioksidan pemutus reaksi) dan kelarutannya (antioksidan lipofilik dan hidrofilik). Antioksidan yang dihasilkan dari alam contohnya seperti rempah, herbal, sayuran dan buah. Senyawa yang ditemukan dalam bahan-bahan tersebut meliputi polifenol, bioflavonoid, vitamin C, vitamin E, beta-karoten dan katekin (Amin, 1996).

Di alam, banyak terdapat berbagai sumber-sumber dari tanaman yang dapat berkhasiat sebagai senyawa antioksidan. Salah satunya adalah tanaman pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) yang sudah dikenal karena daunnya dapat digunakan sebagai pewarna merah baik pada kuku, rambut, jari, tangan untuk memperindah penampilan dan juga dipakai dalam industri tekstil (Rahmat dkk., 2006; Adalina dkk., 2010). Berdasarkan pengalaman, pacar kuku dapat digunakan untuk obat peluruh haid dan keputihan. Secara farmakologi, tanaman pacar kuku berkhasiat sebagai analgesik, hipoglikemi, hepatoprotektor, imunostimulan, antiinflamasi, antibakteri, antimikroba, antifungi, antivirus, antiparasit, antitripanosoma, antidermatopita, antioksidan, antifertilitas, antituberkulosa dan antikanker (Chaudhary *et al.*, 2010).

Khodaparast telah melakukan penelitian terhadap tanaman pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) yaitu mengenai aktivitas antioksidan dari ekstrak daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) serta meneliti komponen fenol yang terdapat pada daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.). Dari penelitian tersebut didapatkan hasil bahwa ekstrak daun pacar kuku

memiliki daya antioksidan dan komponen total fenol dari ekstrak daun pacar kuku dalam penelitian tersebut sangat dipengaruhi oleh sistem pelarut yang digunakan untuk ekstraksi (Khodaparast & Dezashibi, 2007). Penelitian lain terhadap tumbuhan pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) yaitu mengenai penggunaan daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) sebagai obat luka alternatif pada tikus jantan. Dari penelitian tersebut diperoleh hasil bahwa penyembuhan paling cepat didapat dari ekstrak daun pacar kuku dengan konsentrasi 15% (Elya dkk., 2007).

Pada tanaman pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) terdapat banyak kandungan senyawa seperti lawson yang merupakan suatu senyawa pigmen atau penyebab warna. Senyawa lawson tersebut merupakan senyawa fenol yang dapat memberikan warna yang baik. Pada tanaman pacar kuku juga terdapat senyawa naphthoquinon terhidrosilasi yang terdapat dalam bentuk gabungan dengan gula sebagai glikosida atau dalam bentuk kuinolatan warna, kadang-kadang juga berbentuk dimer; juga terdapat saponin, flavonoid, minyak menguap dan tanin (Harborne, 1996; Zubardiah *et al.*, 2008; Rahmat dkk., 2006).

Berdasarkan hasil penelitian, senyawa-senyawa yang memiliki daya antioksidan pada umumnya adalah senyawa golongan fenol dan polifenol. Salah satu contohnya adalah flavonoid. Flavonoid dapat ditemukan dalam produk makanan yang diambil dari sumber tanaman (Van Acker *et al.*, 1996). Senyawa ini merupakan suatu pigmen yang bersifat polar sehingga cenderung lebih mudah larut dalam pelarut polar dan juga menyebabkan warna pada tumbuhan (Markham, 1988). Flavonoid bekerja sebagai antiradikal bebas melalui penekanan radikal bebas atau *Reactive Oxygen Species* (ROS), baik dengan cara penghambatan enzim atau pengkkelatan ion logam yang terlibat dalam produksi radikal bebas dan melalui peredaman radikal bebas (Subarnas, 2001).

Pada penelitian ini, dilakukan proses fraksinasi dan identifikasi senyawa antioksidan dengan menggunakan ekstrak etanol dari daun pacar kuku. Metode pemisahan yang dilakukan adalah kromatografi kolom. Metode ini memiliki keuntungan yaitu ketajaman pemisahan yang lebih besar dan kepekaannya lebih tinggi. Fraksi-fraksi yang terkumpul, masing-masing akan diuji daya antioksidannya secara kualitatif dengan metode KLT – DPPH. Fraksi-fraksi yang memiliki daya antioksidan yang sama akan digabungkan dan akan diidentifikasi golongan senyawanya berdasarkan pada pengamatan skrining fitokimia, spektrofotometer UV – Vis, KLT dan spektrofotometer IR.

Pengujian aktivitas antioksidan secara kuantitatif dari ekstrak dan hasil fraksinasi juga akan dilakukan dengan menggunakan *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH). DPPH merupakan salah satu uji aktivitas biologis secara *in vitro* untuk menentukan potensi suatu zat uji sebagai antioksidan (Pokorni *et al.*, 2001). Penggunaan DPPH untuk metode penangkapan radikal mempunyai beberapa keuntungan, yaitu mudah digunakan, mempunyai tingkat sensitivitas yang tinggi dan dapat menganalisis sejumlah besar sampel dalam jangka waktu yang singkat (Kim *et al.*, 2002). Pada metode DPPH, parameter yang digunakan adalah nilai IC₅₀. Definisi nilai IC₅₀ adalah konsentrasi efektif ekstrak yang dapat menurunkan 50% intensitas serapan dibandingkan blanko (Mulya & Suharman, 1995).

1.2. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah yang telah diuraikan maka masalah penelitian dapat dirumuskan sebagai berikut :

1. Golongan metabolit sekunder apakah yang dapat berfungsi sebagai senyawa antioksidan pada ekstrak etanol daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) ?

2. Bagaimanakah aktivitas antioksidan pada golongan senyawa metabolit sekunder hasil fraksinasi tersebut dibandingkan dengan daya antioksidan pada ekstrak etanolnya?

1.3. Tujuan Penelitian

Penelitian dengan judul “Fraksinasi dan identifikasi senyawa antioksidan pada ekstrak etanol daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) secara kolom kromatografi”, bertujuan untuk :

1. Mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder yang berkhasiat sebagai antioksidan dari ekstrak etanol daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.).
2. Mengetahui perbandingan daya antioksidan golongan senyawa metabolit sekunder yang diisolasi dari ekstrak etanol daun pacar kuku dibandingkan dengan ekstrak etanolnya.

1.4. Hipotesis Penelitian

1. Golongan senyawa metabolit sekunder dari daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) yang memiliki aktivitas antioksidan adalah flavonoid.
2. Golongan senyawa metabolit sekunder hasil fraksinasi dari ekstrak etanol daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) memiliki aktivitas antioksidan yang lebih baik dibandingkan dengan ekstrak etanolnya.

1.5. Manfaat Penelitian

Dari penelitian ini diharapkan dapat dibuktikan secara ilmiah tentang golongan senyawa metabolit sekunder dari daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) yang memiliki daya antioksidan dimana senyawa

ini nantinya dapat digunakan dalam pengobatan berbagai macam penyakit degeneratif.