

# **BAB 1**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Saat ini banyak penyakit degeneratif yang menyebabkan kematian seperti penyakit jantung, diabetes melitus, obesitas, kardiovaskuler, osteoporosis, stroke, kanker, dll. Penyakit denegeratif ini tidak hanya menyerang pada usia lanjut namun bisa menyerang pada usia muda. Faktor-faktor resiko utama penyebab penyakit degeneratif adalah pola makan yang tidak sehat, kurangnya aktivitas fisik, konsumsi rokok, serta meningkatnya stresor dan paparan penyebab penyakit degeneratif (Suiraoaka, 2012). Paparan penyebab penyakit degeneratif meliputi polusi udara yang bisa berasal dari pabrik industri, kejadian pembakaran seperti merokok, memasak, pembakaran bahan bakar pada mesin dan kendaraan bermotor, paparan sinar ultraviolet yang terus menerus, pestisida, pengolahan makanan yang berlebihan, penggunaan minyak goreng secara berulang, penggunaan zat pengawet, dan lain-lain. Tanpa disadari hampir setiap hari kita terkena paparan tersebut. Hal ini bisa menyebabkan terbentuknya radikal bebas dalam tubuh kita secara terus menerus yang berpotensi meningkatkan resiko terjadinya penyakit-penyakit degeneratif (Yunanto, Setiawan dan Suharto, 2009).

Radikal bebas merupakan molekul yang relatif tidak stabil, memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Molekul elektron yang tidak berpasangan ini kemudian akan mencari pasangan elektronnya dengan mengikat elektron bebas di sekitarnya. Jika telah terikat maka akan terbentuk radikal bebas baru yang akhirnya jumlahnya akan terus bertambah (Yunanto, Setiawan dan Suharto, 2009). Radikal bebas tidak hanya berasal

dari luar tubuh, namun dapat berasal dari dalam tubuh kita sendiri seperti sisa proses metabolisme protein, karbohidrat dan lemak pada mitokondria, proses inflamasi atau peradangan, kondisi iskemia, dan lain-lain (Sayuti dan Yenrina, 2015).

Radikal bebas bersifat destruktif, sangat reaktif dan mampu bereaksi dengan makromolekul sel seperti protein, lipid, karbohidrat, atau DNA. Reaksi antara radikal bebas dan molekul tersebut berujung pada timbulnya penyakit yaitu kerusakan DNA pada inti sel dimana dapat menyebabkan karsinogenesis, kerusakan protein yang menyebabkan aterosklerosis dan juga kerusakan lipid peroksida yang menyebabkan hilangnya fungsi organel sel (Sayuti dan Yenrina, 2015). Untuk mencegah terbentuknya radikal bebas dan juga menghambat kerja radikal bebas diperlukan adanya antioksidan.

Antioksidan merupakan senyawa dengan struktur molekulnya dapat memberikan elektron kepada molekul radikal bebas dan juga dapat memutuskan reaksi berantai dari radikal bebas. Tubuh kita secara alami memproduksi antioksidan yang terdiri dari 3 enzim yaitu superoksida dismutase (SOD), glutathion peroksidase (GSH Px), dan Katalase (Khaira, 2010). Ketiga antioksidan ini dapat mengatasi radikal bebas yang berasal dari dalam tubuh, namun jika ditambah dengan radikal bebas yang berasal dari luar tubuh maka akan menyebabkan stres oksidatif dimana sel tidak dapat mengatasi kelebihan radikal bebas yang terbentuk. Dengan kata lain, stres oksidatif dihasilkan ketika ketidakseimbangan antara pembentukan dan penetralisasian radikal bebas (Pham-Huy *et al.*, 2008). Adanya ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan tersebut menyebabkan kerusakan pada sel, jaringan hingga organ tubuh dan mengakibatkan munculnya penyakit (Khaira, 2010).

Tubuh kita tidak mempunyai cadangan antioksidan dalam jumlah yang berlebih, sehingga perlu adanya antioksidan yang berasal dari luar tubuh (eksogen) (Sayuti dan Yenrina, 2015). Antioksidan eksogen diperoleh secara alami yaitu dari tanaman atau hewan (seperti tokoferol, betakaroten, flavonoid dan senyawa fenolik) dan secara sintetik (seperti BHA dan BHT) (Yunanto, Setiawan dan Suharto, 2009). Penggunaan antioksidan sintetik dapat menimbulkan adanya efek samping pada tubuh. BHA dan BHT pada penggunaan jangka panjang menyebabkan adanya tumor pada hewan coba dan juga menyebabkan kerusakan hati. Adanya efek samping tersebut menyebabkan banyak orang beralih pada antioksidan alami (Tahir *et al.*, 2020)

Senyawa fenolik merupakan salah satu antioksidan alami. Senyawa fenolik memiliki aktivitas antioksidan yaitu sebagai pereduksi, penangkal radikal bebas serta sebagai pendonor elektron. Salah satu senyawa fenolik yang dapat ditemukan dalam tanaman yaitu Flavonoid. Flavonoid telah dibuktikan memiliki potensi sebagai penangkap radikal bebas (Sayuti dan Yenrina, 2015). Flavonoid merupakan metabolit sekunder dengan lebih dari satu gugus fenol dan ikatan rangkap terkonjugasi yang dapat diperoleh dari tumbuhan (Kamilatussaniah, Yuniastuti dan Iswari, 2015). Flavonoid berfungsi sebagai antioksidan dengan mendonorkan ion hidrogen sehingga dapat langsung menetralkan efek toksik dari radikal bebas (Badaring *et al.*, 2020). Flavonoid ada yang bersifat polar maupun non polar. Flavonoid yang bersifat polar yaitu glikosida flavonoid dan aglikon. Sementara itu, terdapat juga flavonoid yang bersifat non polar yaitu flavonol, flavanon, isoflavon dan juga flavon alkohol (Hendryani, Lutfi dan Hawa, 2015).

Cengkeh merupakan salah satu tanaman yang memiliki kandungan antioksidan. Daun cengkeh mengandung saponin, alkaloid, flavonoid dan juga tannin (Talahatu dan Pampilaya, 2015). Cengkeh bermanfaat sebagai

antibakteri, antivirus, antifungi, antiplatelet, antikanker, antihistamin dan juga antioksidan (Mustapa, 2020). Namun, saat ini banyak yang belum mengetahui manfaat dari daun cengkeh sehingga belum dimanfaatkan dengan baik. Kebanyakan orang masih menganggap daun cengkeh sebagai limbah yang kurang berguna (Talahatu dan Papilaya, 2015). Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan agar masyarakat dapat mengetahui khasiat yang ada pada tanaman cengkeh khususnya daun cengkeh yaitu sebagai antioksidan.

Untuk menarik senyawa kimia yang ada dalam simplisia daun cengkeh, dilakukan proses ekstraksi. Ekstraksi merupakan proses pemisahan kandungan kimia yang ada dalam tumbuhan dengan menggunakan pelarut tertentu (Mustapa, 2020). Proses ekstraksi melewati beberapa tahapan yaitu pelarut menembus ke dalam padatan matriks, zat terlarut larut dalam pelarut, zat terlarut terdifusi keluar dari matriks, hasil ekstraksi zat terlarut dikumpulkan. Sifat-sifat pelarut ekstraksi, partikel ukuran bahan baku, suhu ekstraksi dan durasi ekstraksi akan mempengaruhi efisiensi proses ekstraksi. Pemilihan pelarut juga sangat penting untuk ekstraksi. Pemilihan pelarut perlu mempertimbangkan hal-hal yaitu selektivitas, kelarutan, biaya, dan juga keamanan (Zhang, Lin dan Ye, 2018).

Pada penelitian ini menggunakan metode ekstraksi maserasi. Metode maserasi merupakan metode ekstraksi dengan melakukan perendaman bahan menggunakan pelarut tertentu sesuai dengan kelarutan bahan ekstraksi (Chairunnisa, Wartini dan Suhendra, 2019). Metode ekstraksi maserasi merupakan metode yang sederhana dan paling banyak digunakan. Metode ini biasa digunakan untuk mengekstraksi komponen kimia yang tidak tahan terhadap panas (Mustapa, 2020). Flavonoid tidak tahan terhadap proses pemanasan karena dapat mengakibatkan penurunan

kadar total flavonoid sebesar 15-78%. Flavonoid merupakan senyawa fenol yang memiliki sistem aromatik yang terkonjugasi. Sistem aromatik terkonjugasi mudah rusak pada suhu tinggi. Pada beberapa golongan flavonoid juga memiliki ikatan glikosida dengan molekul gula yang mudah rusak atau putus pada suhu yang tinggi (Sa'adah, Nurhasnawati dan Permatasari, 2017).

Pelarut yang digunakan yaitu etanol 96% dan etanol 48%. Menurut Departemen Kesehatan RI, sampai saat ini pelarut yang boleh digunakan yaitu air dan alkohol (etanol) serta campurannya. Etanol digunakan sebagai pelarut karena bersifat universal, polar dan mudah didapat. Etanol 96% dipilih karena selektif, tidak toksik, absorpsinya baik dan kemampuan penyariannya yang tinggi sehingga dapat menyari senyawa yang bersifat non polar, semi polar dan polar. Pelarut etanol 96% lebih mudah masuk berpenetrasi ke dalam dinding sel sampel daripada etanol dengan konsentrasi rendah, sehingga menghasilkan ekstrak yang pekat (Wendersteyt, Wewengkang dan Abdullah, 2021). Penggunaan campuran pelarut yaitu etanol 96% dan juga aquadest dapat melarutkan semua komponen senyawa yang bersifat polar. Aquadest merupakan pelarut yang murah, mudah diperoleh, stabil, tidak beracun, dan juga aquadest bersifat universal dimana dapat melarutkan sebagian besar senyawa kimia yang terdapat dalam simplisia (Kumalasari dan Musiam, 2019). Penggunaan aquadest sebagai pelarut tunggal sangat dihindari, karena dapat menyebabkan sari ditumbuhi oleh kapang. Oleh karena itu, digunakan campuran etanol 96% dan aquadest karena kapang dan kuman akan sulit tumbuh dalam etanol dengan konsentrasi lebih dari 20% (Kumalasari dan Musiam, 2019).

Menurut penelitian Wahyulianingsih, Selpida Handayani dan Malik (2016) kadar flavonoid total dari daun cengkeh dengan menggunakan

pelarut etanol 96% sebesar 73,08 mgRE/g ekstrak dengan persentase 7,308%. Aktivitas antioksidan pada daun cengkeh dengan menggunakan pelarut etanol 96% menunjukkan aktivitas yang sangat kuat dengan yaitu nilai IC<sub>50</sub> sebesar 3,026 µg/ml (Aklimah dan Ekayanti, 2022)

Pengujian aktivitas antioksidan dari ekstrak maupun dari sampel uji secara *in-vitro* dapat dilakukan dengan berbagai macam metode, meliputi : *ORAC method (Oxygen Radical Absorbance Capacity method)*, *TRAP method (total Radical-Trapping Antioxidant Parameter method)*, *TEAC method (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity method)*, *PRSC method (peroxyl Radical Scavenging Capacity method)*, *DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil)*, *TOSC method (Total Oxyradical Scavenging Capacity method)*, *FRAP method (Ferric Reducing / Antioxidant Power method)* (Hidayah *et al.*, 2014). Pemilihan metode yang digunakan perlu didasarkan pada beberapa pertimbangan yaitu metode yang digunakan harus relevan secara biologis dengan bahan yang ingin diuji, bersifat sederhana, metode yang digunakan harus memiliki hasil akhir yang jelas, bahan tambahan yang dibutuhkan harus tersedia, dan juga metode yang digunakan harus dapat diterapkan untuk analisis kendali mutu. Sulit untuk membandingkan satu metode dengan metode lainnya, oleh karena itu perlu diperhatikan dengan benar sebelum memilih metode yang digunakan (Munteanu dan Apetrei, 2021).

Pada penelitian ini, metode pengujian yang akan digunakan yaitu metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil*). Metode DPPH merupakan metode yang valid, akurat, mudah, biaya yang dikeluarkan rendah, dan senyawa radikal lebih stabil (Munteanu dan Apetrei, 2021., Kedare dan Singh, 2011). Pada metode ini, DPPH sebagai radikal bebas akan bereaksi dengan zat yang akan mendonorkan atom hidrogen dan menimbulkan bentuk tereduksi yang ditandai dengan hilangnya warna ungu (Kedare dan

Singh, 2011). Parameter yang digunakan dalam metode ini yaitu nilai  $IC_{50}$ . Nilai  $IC_{50}$  merupakan nilai atau konsentrasi dari senyawa sampel uji yang menyebabkan 50% hilangnya aktivitas DPPH, dengan kata lain aktivitas radikal bebasnya (Molyneux, 2004). Semakin kecil nilai  $IC_{50}$  menunjukkan semakin kuat pengikatan terhadap radikal bebas (Puspitasari dan Ningsih, 2016).

## **1.2 Perumusan Masalah**

1. Bagaimana pengaruh perbedaan pelarut terhadap jumlah flavonoid total ekstrak daun cengkeh?
2. Bagaimana pengaruh perbedaan pelarut terhadap aktivitas antioksidan ekstrak daun cengkeh?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

1. Mengetahui pengaruh perbedaan pelarut terhadap jumlah flavonoid total ekstrak daun cengkeh.
2. Mengetahui pengaruh perbedaan pelarut terhadap aktivitas antioksidan ekstrak daun cengkeh.

## **1.4 Hipotesis Penelitian**

1. Pelarut etanol 96% memberikan jumlah flavonoid total yang lebih tinggi dari pada pelarut etanol 48%.
2. Pelarut etanol 96% memberikan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dari pada pelarut etanol 48%.

## **1.5 Manfaat Penelitian**

Memberikan informasi kepada masyarakat tentang daun cengkeh yang diekstrak menggunakan pelarut etanol 96% dan pelarut etanol 48%.

Berdasarkan hasil ekstraksi dengan menggunakan kedua pelarut tersebut dapat dilihat manakah yang memiliki jumlah flavonoid total dan antioksidan yang lebih tinggi, sehingga dapat dimanfaatkan oleh masyarakat.