

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Radikal bebas ialah atom atau gugus atom yang memiliki elektron tak berpasangan (Fessenden & Fessenden, 1986) bersifat tidak stabil dan sangat reaktif seperti oksigen reaktif (ROS), spesies nitrogen reaktif (RNS), dan spesies klorin (Evans & Hallewill, 2001). Radikal bebas dapat mengakibatkan kerusakan biomolekul misalnya, lemak, protein, asam amino, dan DNA (Fang *et al.*, 2002).

Senyawa yang mampu untuk menunda atau menghambat proses oksidasi suatu radikal bebas adalah antioksidan. Antioksidan terlibat dalam mekanisme pertahanan organisme terhadap patologi terkait dengan serangan radikal bebas (Pisoschi & Negulescu, 2011). Prinsip mekanisme aksinya melalui penghambatan pembentukan radikal dengan cara menstabilkan dan mencegah reaktivitas radikal bebas (Molyneux, 2004). Suatu antioksidan primer dapat mengikat radikal bebas dan menyumbangkan atom hidrogen atau elektron untuk membuat radikal bebas lebih stabil. Di sisi lain, antioksidan sekunder bertindak sebagai penekan pembentukan radikal sehingga mencegah kerusakan oksidatif (Lim *et al.*, 2007).

Sumber-sumber antioksidan alami yang berasal dari alam banyak dijumpai pada tanaman yang mengandung karotenoid, senyawa fenolat, turunan asam benzoat, flavonoid, proantosianidin, stilben, kumarin, lignan, dan lignin (Lindsay & Astley, 2006). Senyawa flavonoid berupa senyawa fenolat memiliki kemampuan untuk menghilangkan dan secara efektif mengurangi spesies pengoksidasi yang merusak (Heinrich *et al.*, 2010).

Salah satu tanaman yang memiliki potensi sebagai agen antioksidan menurut Hue *et al.* (2012) adalah daun ubi ungu (*Ipomoea batatas* L.) karena pada penelitian Padda & Picha (2007) daun yang masih muda mengandung senyawa fenolat dan antioksidan yang tinggi. Kandungan fenolat pada tanaman dapat dipengaruhi oleh kondisi geografis (Hue *et al.*, 2012), iklim (Ghasemi *et al.*, 2011), musim, waktu

panen dan jenis pelarut untuk mengekstraksi (Nunes *et al.*, 2013). Selain itu menurut penelitian Nantitanon *et al.* (2010) menyebutkan bahwa *pretreatment* sampel daun sebelum diekstrak, metode ekstraksi dan proses pengeringan mempengaruhi aktivitas antioksidan yang dihasilkan.

Freeze drying merupakan salah satu metode pengeringan yang dapat digunakan (Islam *et al.*, 2009). Adanya kristal es pada daun yang telah dikeringkan dengan *freeze drying* dapat menyebabkan pecahnya struktur sel tanaman yang lebih besar dan memungkinkan untuk akses pelarut yang lebih baik sehingga proses ekstraksi berjalan efisien (Asami *et al.*, 2003). Penelitian Deinum & Maassen (1994) juga menyebutkan bahwa cara *freeze drying* lebih cepat dan tidak mengurangi kemampuan daun untuk dapat didigesti oleh pelarut. Jika dibandingkan dengan metode *heat drying* (oven 55 °C), metode pengeringan *freeze drying* akan menghasilkan senyawa fenolat dan flavonoid total yang lebih tinggi (Hung & Duy, 2012).

Pengukuran aktivitas antioksidan dapat dilakukan dengan metode DPPH (Islam *et al.*, 2009) dan FTC (Rezaeizadeh *et al.*, 2011). Metode DPPH merupakan metode uji antioksidan dengan menggunakan senyawa 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil yang ditandai sebagai radikal bebas stabil (Molyneux, 2004). Metode FTC (*Ferri (III) Thiocyanate*) digunakan untuk mengukur jumlah peroksida pada awal reaksi peroksidasi lipid. Radikal peroksida akan bereaksi dengan besi (II) klorida membentuk ion besi (III) yang kemudian bereaksi dengan ammonium tiosianat dan menghasilkan besi (III) tiosianat (Aqil *et al.*, 2006). Hasil uji antioksidan daun ubi jalar pada penelitian Hue *et al.* (2012) menunjukkan bahwa semua varietas daun *I. batatas* memiliki sifat antiradikal yang lebih tinggi dibandingkan dengan vitamin C standar.

Untuk memenuhi kebutuhan agen antioksidan alami yang murah dan mudah didapat, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai potensi daun ubi ungu dengan pengeringan *freeze drying*.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

1. Berapa kandungan total fenolat dan flavonoid yang terdapat dalam ekstrak etanol dari daun ubi ungu (*I. batatas* L.) yang dikeringkan dengan *freeze drying* dibandingkan dengan pengeringan biasa?
2. Berapa kandungan antioksidan ekstrak etanol dari daun ubi ungu (*I. batatas* L.) yang dikeringkan dengan *freeze drying* dibandingkan dengan pengeringan biasa menggunakan metode DPPH dan FTC?
3. Bagaimana korelasi antara kandungan fenolat dan flavonoid dengan aktivitas antioksidan ekstrak etanol dari daun ubi ungu (*I. batatas* L.) yang dikeringkan dengan *freeze drying* dibandingkan dengan pengeringan biasa?

C. Tujuan Penelitian

1. Memperoleh informasi kandungan total fenolat dan flavonoid pada ekstrak etanol dari daun ubi ungu (*I. batatas* L.) yang dikeringkan dengan *freeze drying* dibandingkan dengan pengeringan biasa.
2. Mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol dari daun ubi ungu (*I. batatas* L.) yang dikeringkan dengan *freeze drying* dibandingkan dengan pengeringan biasa menggunakan metode DPPH dan FTC.
3. Mendapatkan korelasi antara kandungan fenolat dan flavonoid dengan aktivitas antioksidan ekstrak etanol dari daun ubi ungu (*I. batatas* L.) yang dikeringkan dengan *freeze drying* dibandingkan dengan pengeringan biasa.

D. Tinjauan Pustaka

1. Radikal bebas dan antioksidan

Radikal bebas seperti spesies oksigen reaktif berkontribusi terjadinya beberapa penyakit degeneratif seperti artritis, sirosis, kanker, alzheimer dan penuaan karena radikal bebas merusak molekul biologis seperti lemak, protein, asam amino,

dan DNA (Fang *et al.*, 2002). Aksi radikal bebas ini dapat dicegah dengan antioksidan (Lim *et al.*, 2007).

Dalam tubuh, terdapat antioksidan endogen namun tidak cukup memadai untuk mencegah kerusakan sepenuhnya, sehingga asupan antioksidan penting dalam menjaga kesehatan (Halliwell, 1996).

2. Tanaman ubi ungu (*Ipomoea batatas* L.)

a. Klasifikasi

Sistematika tanaman ubi ungu dalam Juanda & Cahyono (2000) disebutkan sebagai berikut :

Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Convolvulales
Genus	: <i>Ipomoea</i>
Spesies	: <i>Ipomoea batatas</i> L. <i>Sin batatas edulis choisy</i>

b. Kandungan kimia

Ekstrak etanol daun *I. batatas* mengandung fenolat total dan flavonoid lebih tinggi (Koncic *et al.*, 2011). Selain itu pada penelitian Islam *et al.* (2009) menyatakan bahwa daun ubi ungu memiliki kandungan asam kafeoilkuinik sebagai antioksidan yang dapat mencegah kanker dan penyakit kardiovaskuler.

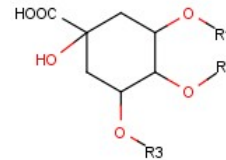
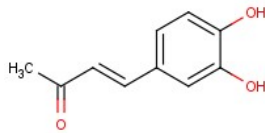
Turunan flavonoid yang terkandung dalam daun ubi jalar pada penelitian Luo & Kong (2005) menunjukkan adanya tilirosida, astragalin, rhamnositrin, rhamnetin dan kaempferol (Gambar 2). Turunan senyawa polifenol yang telah diteliti oleh Islam *et al.* (2002) adalah sebagai berikut: asam 3,5-di-O-kafeoilkinat, asam 4,5-di-O-kafeoilkinat, asam klorogenat (asam 3-O-kafeoilkinat), asam 3,4-di-O-kafeoilkinat, asam 3,4,5-tri-O-kafeoilkinat, dan asam kafeat.

3. Senyawa polifenol : fenolat dan flavonoid

Senyawa polifenol dapat ditemukan dalam bentuk flavonoid, begitu juga senyawa flavonoid dapat berupa senyawa fenolat. Namun tidak semua flavonoid adalah fenolat dan sebaliknya tidak semua fenolat berupa senyawa flavonoid.

a. Senyawa fenolat

Senyawa fenolat merupakan senyawa yang memiliki cincin aromatik yang mengandung satu atau dua gugus hidroksi. Senyawa fenolat cenderung mudah larut dalam air karena umumnya sering kali berikatan dengan glikosida (Harborne, 1987). Tanaman yang banyak mengandung senyawa fenolat berpotensi sebagai antioksidan (Apak *et al.*, 2007). Dibawah ini merupakan struktur derivatif asam kafeat yang terkandung dalam daun *I. batatas* menurut Islam *et al.* (2009).



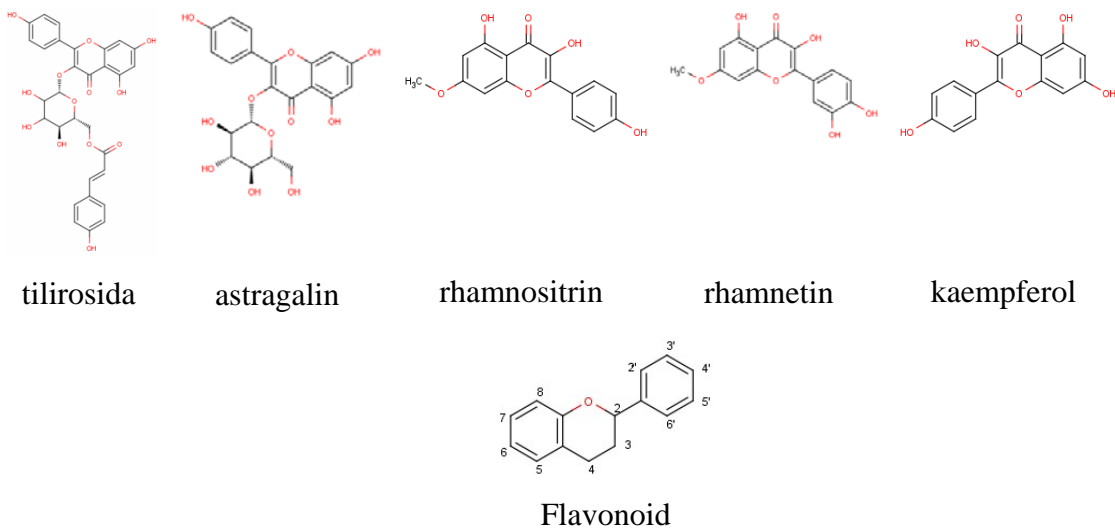
Kafeoil	R1	R2	R3
asam 3-O-kafeoilkinat	kafeoil	H	H
asam 4,5-di-O-kafeoilkinat	H	kafeoil	kafeoil
asam 3,5-di-O-kafeoilkinat	kafeoil	H	kafeoil
asam 3,4-di-O-kafeoilkinat	kafeoil	kafeoil	H
asam 3,4,5-tri-O-kafeoilkinat	kafeoil	kafeoil	kafeoil

Gambar 1. Struktur umum senyawa fenol dan turunannya dalam daun *I. batatas* L.

b. Senyawa flavonoid

Flavonoid dapat berupa kelompok senyawa polifenol. Struktur flavonoid sebagai antioksidan dan penangkap radikal adalah yang mengandung gugus hidroksi pada posisi karbon tiga, ikatan ganda antara karbon posisi dua dan tiga, gugus karbonil pada posisi karbon empat, dan polihidroksi pada dua cincin aromatik (Cook & Samman, 1996).

Aksi senyawa flavonoid sebagai antioksidan dapat dibagi menjadi 2 mekanisme yaitu menangkal atau mengkelat radikal (Cook & Samman, 1996). Mekanisme menangkal radikal yaitu dengan menekan pembentukan radikal sehingga mencegah kerusakan oksidatif, sedangkan mengikat radikal bebas yaitu dengan menyumbangkan atom hidrogen atau elektron untuk membuat radikal bebas lebih stabil (Lim *et al.*, 2007). Flavonoid yang mengandung sistem aromatik yang terkonjugasi dapat menunjukkan pita serapan kuat pada daerah spektrum UV dan spektrum tampak. Berikut adalah struktur flavonoid yang terkandung dalam daun ubi ungu menurut Luo & Kong (2005).



Gambar 2. Struktur umum flavonoid dan turunannya dalam daun *I. batatas* L.

4. Freeze drying

Definisi *freeze drying* (FD) menurut Ansel (1989) yaitu proses penghilangan air dari produk dalam keadaan beku pada tekanan yang sangat rendah. Proses tersebut umumnya digunakan untuk mengeringkan produk yang tidak tahan panas dan akan rusak atau jika tidak sangat terpengaruh dengan panas.

Pengeringan beku hanya dapat terjadi jika tekanan parsial uap dalam ruang pengering lebih rendah dari tekanan uap air dari produk. Sublimasi dapat berlangsung pada tekanan atmosfer dengan melewati udara dehidrasi diatas produk (Anonim, 2004). Keuntungan pengeringan dengan cara FD diantaranya adalah kerusakan enzim

pada daun relatif rendah dan kristal es yang terbentuk tidak merusak membran dan dinding sel daun. Dibandingkan dengan pengeringan menggunakan matahari, cara FD lebih cepat dan tidak mengurangi kemampuan daun untuk didigesti (Deinum & Maassen, 1994).

5. Ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan kering, kental, atau cair dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok, di luar pengaruh cahaya matahari langsung, ekstrak kering harus mudah digerus menjadi serbuk (Depkes RI, 1979). Ekstraksi daun ubi jalar dapat dilakukan dengan menggunakan etanol 80%, kemudian dilakukan pemanasan selama 5 menit untuk mengekstrak senyawa fenol (Islam *et al.*, 2009).

6. Kromatografi lapis tipis

Kromatografi lapis tipis (KLT) fase diamnya berupa lapisan yang seragam pada permukaan bidang datar yang didukung oleh lempeng kaca, pelat aluminium, atau pelat plastik. Fase gerak pada KLT dapat dipilih dari pustaka, tetapi lebih sering dengan mencoba-coba karena waktu yang diperlukan hanya sebentar. Keuntungan KLT dibandingkan dengan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) dan kromatografi gas (KG) yaitu KLT dapat memberikan fleksibilitas yang lebih besar dalam memilih fase gerak; dapat dilakukan optimasi pemisahan seperti pengembangan 2 dimensi, pengembangan bertingkat dan pembaceman penjerap; proses mudah dan semua komponen dalam sampel dapat dideteksi (Rohman, 2009).

7. Uji antioksidan

Salah satu metode yang dapat digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan adalah DPPH (Islam *et al.*, 2006) dan FTC (Rezaeizadeh *et al.*, 2011).

a. Metode DPPH

Uji DPPH mengukur kemampuan ekstrak untuk menyumbangkan hidrogen kepada agen radikal. Dalam uji DPPH, semakin rendah IC_{50} maka semakin baik ekstrak menangkal radikal (Frankel, 1991). Senyawa DPPH ditandai sebagai radikal bebas yang stabil berdasarkan delokalisasi dari elektron disekelilingnya, sehingga

molekul tidak terdimerisasi. Delokalisasi akan menimbulkan warna ungu tua, ditandai oleh pita serapan dalam larutan etanol pada panjang gelombang 520 nm (Molyneux, 2004).

b. Metode Besi (III) tiosianat (FTC)

Penghambatan peroksidasi oleh ekstrak tanaman menunjukkan potensi antioksidan. Metode besi (III) tiosianat digunakan untuk mengukur jumlah peroksida pada awal peroksidasi lipid. Peran antioksidan adalah menyumbangkan hidrogen pada radikal peroksil lipid dan memutus siklus generasi radikal baru. Adanya radikal bebas akan mengoksidasi ion besi (II) menjadi ion besi (III) yang kemudian bereaksi dengan ammonium tiosianat menghasilkan besi (III) tiosianat dengan pigmen kemerahan (Aqil *et al.*, 2006).

E. Landasan Teori

Pada uji antioksidan yang dilakukan oleh Ghasemzadeh *et al.* (2012), ekstrak daun *I. batatas* menunjukkan adanya antioksidan dan kemampuan untuk mengikat radikal bebas. Hal ini disebabkan adanya kandungan total fenol dan flavonoid yang tinggi pada ekstrak etanol daun ubi jalar (Koncic *et al.*, 2011).

Senyawa yang bertanggung jawab terhadap potensi antioksidan pada daun *I. batatas* adalah derivat asam kafeat (Islam *et al.*, 2009). Kandungan tertinggi asam 3,4,5-tri-O-kafeoilkuinat dan asam 4,5-di-O-kafeoilkuinat mencapai 1183,30 mg/100 g berat kering daun ubi jalar (Islam *et al.*, 2002). Beberapa golongan polifenol yang bersifat polar ini pada penelitian Islam *et al.* (2009) dapat diekstraksi dengan pelarut organik seperti etanol.

Hue *et al.* (2012) dalam penelitiannya menunjukkan bahwa daun ubi jalar varietas Indon memiliki fenolat total $5,35 \pm 0$ g GAE/100 g *dry weight* (DW), sedangkan kandungan flavonoid pada daun berkisar antara $96 \pm 47,6$ $\mu\text{g/g}$ (varietas Indon) sampai $263,5 \pm 43,5$ $\mu\text{g/g}$ (varietas Biasa Batu). Daun *I. batatas* varietas Indon menunjukkan memiliki aktivitas penangkap radikal tertinggi yaitu $\text{IC}_{50} = 372,4$ $\mu\text{g/mL}$ dengan metode DPPH. Penelitian lain yang dilakukan oleh Ghasemzadeh *et*

al. (2012) menggunakan metode pengeringan daun *freeze drying* menunjukkan aktivitas antioksidan tertinggi pada daun varietas Vardaman memiliki nilai IC₅₀ sebesar 184,3 µg/mL.

Metode pengeringan FD memiliki keuntungan dibandingkan dengan metode pengeringan lain, diantaranya lebih cepat dan tidak mengurangi kemampuan daun untuk dapat didigesti (Deinum & Maassen, 1994). Kristal es yang terbentuk pada daun juga dapat menyebabkan pecahnya struktur sel tanaman yang lebih besar dan memungkinkan untuk akses pelarut yang lebih baik sehingga proses ekstraksi menjadi efisien (Asami *et al.*, 2003).

Selain itu bila dibandingkan dengan metode *heat drying*, pengeringan FD akan menghasilkan total fenolat dan flavonoid yang lebih tinggi (Hung & Duy, 2012). Hal ini disebabkan oleh adanya kondensasi oksidatif atau dekomposisi senyawa termolabil seperti katekin dengan pengeringan pada suhu 60 °C (Asami *et al.*, 2003). Dengan demikian ekstrak etanol daun *I. batatas* yang dikeringkan menggunakan FD dapat menjadi sumber antioksidan yang potensial.

F. Hipotesis

Ekstrak etanol dari daun ubi ungu (*Ipomoea batatas* L.) yang dikeringkan dengan *freeze drying* memiliki kandungan fenolat, flavonoid dan antioksidan lebih tinggi jika dibandingkan dengan pengeringan biasa.