

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Radikal bebas secara normal diproduksi oleh tubuh sebagai hasil samping metabolisme aerob (Fang *et al.*, 2002). Apabila produksinya berlebih, maka radikal bebas tersebut dapat menyebabkan kerusakan sel termasuk lemak, membran, protein dan DNA (Valko *et al.*, 2006). Adanya paparan radiasi sinar matahari juga menyebabkan terbentuknya spesi oksigen reaktif yang juga menyebabkan kerusakan biomolekul dalam tubuh (Fang *et al.*, 2002). Ketidakseimbangan antara radikal bebas dengan enzim antioksidan alami dalam tubuh (seperti SOD, GPx, CAT, dan lain sebagainya) dapat menurunkan ketahanan tubuh terhadap kerusakan dan penyakit (Valko *et al.*, 2006). Salah satu akibat merugikan yang ditimbulkan oleh adanya radikal bebas pada tubuh manusia adalah oksidasi lipid atau lipid peroksidasi. (Mylonas & Kuretas, 1999).

Pengaturan asupan nutrisi yang kaya akan zat antioksidan dapat menghambat peristiwa oksidasi tubuh dengan mekanisme aksi sinergis bersama dengan enzim-enzim antioksidan endogen dalam tubuh (Madhavi *et al.*, 1996). Antioksidan alami yang terkandung dalam buah dan sayur seperti senyawa polifenol misalnya asam fenolat dan flavonoid dapat berikatan dengan radikal bebas seperti peroksida dan hidroperoksida atau lemak peroksidil, sehingga dapat menghambat mekanisme oksidasi dalam tubuh (Prakash, 2001).

Salah satu sumber antioksidan alami yang baik bagi tubuh adalah daun ubi ungu. Daun ubi ungu memiliki kandungan senyawa polifenol yang lebih tinggi dibandingkan pada sayuran lain seperti bayam, brokoli, kubis selada, dan lain sebagainya (Islam, 2006). Penelitian yang telah dilakukan terhadap ekstrak metanol, etanol dan air daun *I. batatas* yang tumbuh di beberapa negara seperti

Malaysia, Amerika, dan Kroasia menunjukkan bahwa daun ubi ungu memiliki aktivitas antioksidan yang potensial dan besarnya aktivitas antioksidannya dipengaruhi oleh besarnya kandungan senyawa fenolik dan flavonoid totalnya (Hue *et al.*, 2012; Islam *et al.*, 2009 ; Koncic *et al.*, 2012).

Proses pengeringan merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi kandungan senyawa fenolik dan flavonoid total dalam suatu simplisia sehingga dapat mempengaruhi aktivitas antioksidannya (Hernani & Nurdjanah, 2009). Simplisia daun dapat dikeringkan dengan metode pemanasan oven. Metode ini lebih baik daripada pengeringan dengan cahaya matahari di tempat terbuka karena suhunya dapat lebih terjaga dan optimum, lebih higienis karena simplisia dikeringkan dalam ruang tertutup, dan waktu pengeringan relatif lebih cepat (pengeringan tidak bergantung pada cuaca) (Sembiring, 2007).

Penelitian ini dilakukan untuk melihat aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun *I. batatas* L. yang diambil dari daerah Karanglo, Tawangmangu, Jawa Tengah yang daunnya dikeringkan dengan pengeringan oven dan sinar matahari. Besarnya aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun *I. batatas* L. diukur dengan menggunakan tiga metode yaitu dengan metode DPPH, FTC dan TBA. Metode DPPH digunakan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak terhadap oksidan reaktif DPPH sedangkan metode FTC dan TBA digunakan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak terhadap peristiwa peroksidasi lemak.

B. Rumusan Masalah

1. Apakah ekstrak etanol daun ubi ungu (*Ipomoea batatas* L.) memiliki aktivitas sebagai antioksidan dan lebih baik setelah pengeringan oven?
2. Berapakah kadar fenolik dan flavonoid total dalam ekstrak etanol daun ubi ungu (*Ipomoea batatas* L.) dari simplisia yang dikeringkan dengan oven dan matahari?

3. Bagaimanakah kolerasi antara kadar fenolik dan flavonoid total dengan aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun ubi ungu (*Ipomoea batatas* L.) baik yang dikeringkan dengan oven maupun matahari?

C. Tujuan

1. Menentukan aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun ubi ungu (*Ipomoea batatas* L.) dengan pemanasan oven menggunakan metode DPPH, FTC dan TBA dan membandingkannya dengan ekstrak dengan pengeringan matahari.
2. Mengetahui besarnya kadar fenolik dan flavonoid total yang terkandung dalam ekstrak etanol daun ubi ungu (*Ipomoea batatas* L.) dan membandingkannya dengan ekstrak dengan pengeringan matahari.
3. Mengetahui kolerasi antara kadar fenolik dan flavonoid total dengan aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun ubi ungu (*Ipomoea batatas* L.) dengan metode DPPH, FTC dan TBA dan membandingkannya dengan ekstrak dengan pengeringan matahari.

D. Tinjauan Pustaka

1. Radikal bebas

Radikal bebas adalah atom atau molekul (kumpulan atom) yang memiliki elektron yang tak berpasangan (*unpaired electron*). Radikal bebas lebih berbahaya dibanding dengan oksidan yang bukan radikal. Hal ini disebabkan karena reaktivitas yang tinggi dan kecenderungan membentuk radikal yang baru (yang pada gilirannya apabila menjumpai molekul lain akan terbentuk kembali radikal baru lagi), sehingga terjadilah rantai reaksi. Reaksi berantai tersebut baru dapat berhenti apabila radikal bebas tersebut diredam (*quenched*) (Suryohudoyo, 1993). Proses metabolisme tubuh selalu diiringi pembentukan radikal bebas, yakni molekul-molekul yang sangat reaktif. Pembentukan radikal bebas dalam tubuh pada hakikatnya adalah suatu kejadian normal, bahkan terbentuk secara kontinyu karena dibutuhkan untuk proses tertentu (Sigit, 2012). *Reactive Oxygen Species*

(ROS) dan *Reactive Nitrogen Species* (RNS) adalah salah satu radikal bebas alami yang terbentuk karena suatu peristiwa enzimatik dalam tubuh (Valko *et al.*, 2006). Pembentukan radikal bebas yang berlebihan dapat menjadi bumerang bagi sel tubuh. Selama proses tersebut, membran sel dijebol dan inti sel dicerai. Aksi ini dapat mempercepat proses penuaan jaringan, cacat DNA serta pembentukan sel-sel tumor (Sigit, 2012).

2. Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang memiliki aktivitas sebagai penangkap radikal bebas (Prakash, 2001). Ada dua kategori antioksidan, yaitu enzim antioksidan yang terdapat dalam tubuh dan antioksidan non enzim. Enzim antioksidan secara alami telah ada dalam tubuh sebagai pertahanan tubuh. Contoh enzim antioksidan adalah superoksida dismutase (SOD), glutathione peroksidase (GPx), dan katalase (CAT). Antioksidan non enzim contohnya adalah asam askorbat (Vitamin C), alfa tokoferol (Vitamin E), glutathione (GSH), karotenoid, senyawa fenolik, flavonoid dan antioksidan lain. Pada kondisi normal, ada keseimbangan antara aktivitas antioksidan dengan radikal bebas pada level intraselular. Keseimbangan ini adalah hal yang paling mendasar agar organisme dapat bertahan hidup dan dalam keadaan sehat (Valko *et al.*, 2006).

3. Senyawa polifenol : senyawa fenolik dan flavonoid

Istilah senyawa polifenol digunakan untuk mendeskripsikan berbagai macam senyawa fenolik yang berasal dari tanaman. Senyawa fenolik dapat diidentifikasi dari kesamaan ciri yang dimilikinya, yaitu adanya cincin aromatik yang mengandung gugus hidroksil berjumlah satu atau dua. Senyawa ini kebanyakan terdapat dalam vakuola sel (Harborne, 1973).

Lebih dari 8000 struktur senyawa fenolik telah diketahui. Senyawa fenolik merupakan hasil metabolit sekunder tanaman yang secara alami berfungsi untuk menahan radiasi sinar UV, mencegah serangan patogen, parasit, dan predator. Dewasa ini senyawa fenolik mulai diteliti karena memiliki khasiat sebagai

antioksidan dan dapat mencegah penyakit – penyakit yang disebabkan karena adanya peristiwa oksidasi dalam tubuh seperti kanker (Dai *et al.*, 2010).

Senyawa Flavonoid merupakan salah satu dari kelompok besar senyawa polifenol yang berasal dari tanaman (Rangaana, 1977). Flavonoid memiliki aktivitas antioksidan dan dapat berperan sebagai penghambat tumor dalam berbagai tahap dalam percobaannya dengan hewan (Hollman & Katan, 1999). Ada tiga mekanisme senyawa polifenol sebagai antioksidan dalam tubuh, yaitu : sebagai penangkap radikal bebas ROS/RNS dengan memberikan atom hidrogen, menekan pembentukan ROS/RNS dengan menginhibisi beberapa enzim atau membentuk kelat dengan logam pada pembentukan radikal bebas dalam tubuh, dan sebagai pengatur dan pelindung dengan pertahanan terhadap oksidan atau disebut dengan antioksidan (Dai *et al.*, 2010).

4. Tanaman ubi ungu

a. Sistematika

Divisi : Spermatophyta

Subdivisi : Angiospermae

Kelas : Dicotyledonae

Ordo : Convolvulales

Genus : Ipomoea

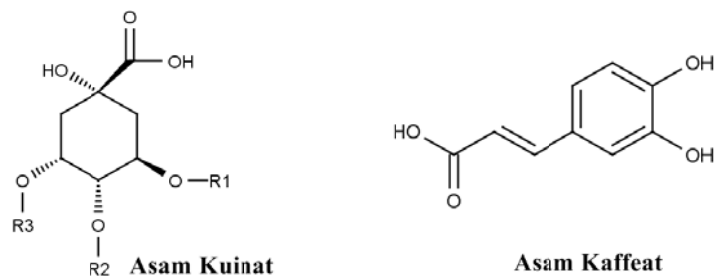
Spesies : *Ipomoea batatas* L. *Sin batatas edulis choisy*

(Juanda & Cahyono, 2000)

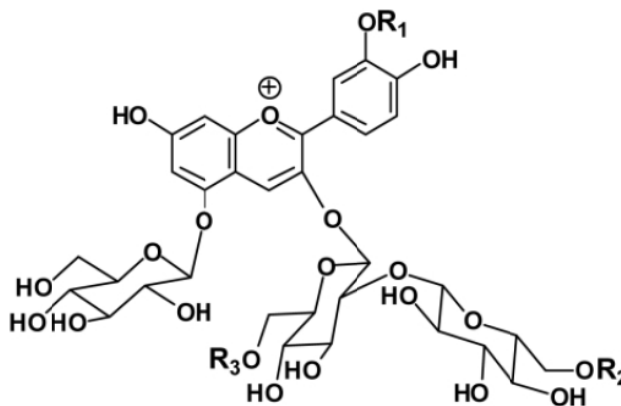
b. Kandungan kimia dan potensi aktivitas antioksidan

Daun *I. batatas* L. mengandung Ca, Fe, Zn (Pace *et al*, 1985), Alkaloid dan antosian yang terkandung dalam ekstrak daun ini aktif sebagai inhibitor enzim alfa oksidase sehingga memiliki pontensi sebagai obat diabetes tipe 2 (Pamungkas, 2012). Kandungan Lutein juga dapat mencegah kebutaan yang disebabkan karena adanya degenerasi *macular* (Menelaou *et al*, 2006). Adanya fiber dan senyawa yang mirip dengan pektin berkhasiat sebagai antibakteri (Islam, 2008).

Kandungan senyawa polifenol dalam daun *I. batatas L.* adalah antosianin dan asam fenolat (Islam *et al*, 2002). Antosianin adalah salah satu golongan senyawa flavonoid, sedangkan asam fenolatnya termasuk golongan senyawa fenolik (Dai *et al.*, 2010). Secara biologis komponen ini memiliki berbagai macam aktivitas farmakologis (Islam, 2007), termasuk mencegah peroksidasi lipid dan kerusakan DNA (Chen *et al.*, 2008).



Gambar 1. Struktur kimia asam kafeat dan 5 jenis derivate asam kafeoil kuinat yang terkandung dalam *Ipomoea batatas L.* (R_1, R_2 , dan R_3 dapat berupa asam kafeoil atau hidrogen) (Islam, 2006)



Gambar 2. Struktur kimia antosianin glikosida yang terkandung dalam daun *Ipomoea batatas* (Islam, 2006)

Terdapat 15 jenis antosianin yang terkandung dalam daun *I. batatas*. Antosianin tersebut adalah jenis sianidin terasilasi dan peonidin. Sedangkan asam fenolatnya terdiri dari asam kafeat dan 5 jenis derivat asam kafeoilkinat, yaitu asam kafeoilkinat 3-mono-O-(asam klorogenat, ChA), asam kafeoilkinat 3,4-di-O- (3,4-diCQA), asam kafeoilkinat 3,5-di-O- (3,5-diCQA), asam kafeoilkinat 4,5-di-

O- (4,5-diCQA), dan 3,4,5-tri-O-(3,4,5-triCQA) (Islam, 2006). Adapun tingkatan relatif kandungan asam fenolat tersebut dimulai dari yang paling banyak jumlahnya adalah : asam kafeoilkinat 3,5-di-O-(3,5-diCQA), asam kafeoilkinat 4,5-di-O-(4,5-diCQA), asam klorogenat, asam kafeoilkinat 3,4-di-O-(3,4-diCQA), 3,4,5-tri-O- (3,4,5-triCQA), asam kafeat (Islam *et al.*, 2002).

5. Uji antioksidan dengan metode DPPH

Metode DDPPH secara luas telah digunakan untuk menguji kemampuan suatu senyawa sebagai penangkap radikal bebas atau sebagai donor hidrogen serta untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan dalam makanan (Prakash, 2001). DPPH adalah suatu radikal bebas yang stabil berdasarkan adanya delokalisasi elektron bebas pada molekul keseluruhan dan menyebabkan molekul tersebut tidak terdimerisasi. Adanya delokalisasi juga memberikan warna ungu tua yang dapat diukur pada panjang gelombang 520 nm. Ketika larutan DPPH ditambahkan dengan senyawa yang dapat menyumbangkan atom hidrogen, maka warna larutan DPPH akan tereduksi (Molyneux, 2004).

Ketika elektron ganjil dari radikal DPPH berpasangan dengan hidrogen dari suatu senyawa penangkap radikal bebas untuk membentuk DPPH-H maka akan menyebabkan perubahan warna dari ungu menjadi kuning. Intensitas warna yang berkurang mengindikasikan peningkatan kemampuan antioksidan untuk menangkap radikal bebas. Aktivitas antioksidan diperoleh dengan menghitung jumlah pengurangan intensitas warna ungu DPPH yang sebanding dengan pengurangan konsentrasi larutan DPPH melalui pengukuran absorbansi larutan uji (Prakash, 2001).

6. Uji antioksidan dengan metode FTC dan TBA

Metode FTC (*Ferri thiocyanate*) digunakan untuk mengukur adanya peroksida yang terjadi pada awal terbentuknya peroksidasi lipid dimana peroksida akan bereaksi dengan FeCl_2 dan membentuk ion besi(III). Ion besi(III) akan bereaksi dengan ammonium tiosianat dan menghasilkan feri tiosianat yang berwarna merah (Zahin *et al.*, 2009). Semakin turun konsentrasi peroksida maka aktivitas

antioksidan akan semakin kuat. Pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang 500 nm dan diukur tiap 24 jam sampai absorbansi kontrol mencapai absorbansi maksimal. Larutan kontrol adalah larutan campuran pereaksi tanpa ditambahkan sampel (Naphade *et al.*, 2009).

Metode TBA (*thiobarbituric acid*) digunakan untuk mengukur adanya produk turunan peroksida yang terbentuk (Zahin *et al.*, 2009). Sama seperti metode FTC, semakin rendah absorbansinya maka menunjukkan aktivitas antioksidan yang semakin meningkat. Pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang 532 nm pada hari terakhir pengukuran (Naphade *et al.*, 2009).

E. Landasan Teori

Senyawa polifenol banyak terdapat dalam buah, sayur dan berbagai macam bahan makanan yang berasal dari tanaman. Salah satu aktivitas senyawa ini adalah sebagai pasangan (*coupling*) dengan senyawa oksidator. (Rangaana., 1977). Kandungan senyawa polifenol *I. batatas* terdiri dari 15 jenis antosianin dan 6 jenis senyawa polifenol yang memiliki berbagai macam aktivitas biologi termasuk antioksidasi. Ekstrak etanolnya diketahui memiliki total senyawa fenolik sebesar 12,18 sampai 16,17g/100g *Dry Weight* (DW) dengan aktivitas penangkap radikal bebas (APRB) sebesar 1,09 sampai 1,85 $\mu\text{mol trolox/mg}$ (Islam, 2006; 2007; Islam *et al.*, 2009). Penelitian lain yang dilakukan oleh Koncic *et al* (2012), ekstrak etanol daun *I. batatas* L. yang tumbuh di daerah Kroasia memiliki jumlah total fenolik sebesar $90,0 \pm 3,2 \text{ mg/g}$ dengan APRB sebesar $\text{EC}_{50} 54,1 \pm 9,1 \mu\text{g/mL}$. Sedangkan ekstrak metanolnya pada varietas oren memiliki kandungan jumlah total flavonoidnya sebesar $144,6 \pm 40,5 \mu\text{g/g}$ ekivalen katekin dan memiliki jumlah total fenoliknya sebesar $3,470 \pm 0,024 \text{ GAE G/100g DW}$ dengan aktivitas antioksidan sebesar $\text{IC}_{50} 545,39 \mu\text{g/mL}$ dan (Hue *et al.*, 2011).

Proses pengeringan bahan baku merupakan proses yang penting dalam preparasi pembuatan ekstrak. Manfaat pengeringan adalah agar bahan yang akan diekstrak menjadi lebih awet karena kadar airnya rendah. (Sembiring, 2007). Senyawa fenolik yang terkandung dalam suatu simplisia daun sebagian besar dipengaruhi oleh kondisi pengeringan (Stanisavljevic *et al.*, 2012). Pada daun jambu biji yang dikeringkan pada suhu 50°C selama 20 jam ternyata memiliki kandungan total fenolik yang lebih tinggi dibandingkan pengeringan pada suhu 30° C selama 72 jam (Nantitanon *et al.*, 2010). Daun zaitun (Var. serrana) akan mendapatkan potensi senyawa antioksidan tyrosol yang optimum bila dikeringkan pada suhu 120° C (Ahmad-Qasem *et al.*, 2011). Sedangkan pada daun gambir suhu optimum pengeringan untuk mendapat kadar total fenol maksimum adalah 79,01° C (Susanti, 2008). Pemilihan metode dan suhu optimum pengeringan tanaman juga harus disesuaikan oleh jenis senyawa metabolit aktif yang terkandung di dalamnya (Hernani & Nudjanah, 2009).

F. Hipotesis

Ekstrak etanol daun ubi ungu (*Ipomoea batatas* L.) mengandung senyawa fenolik dan flavonoid yang memiliki aktivitas sebagai penangkap radikal bebas. Perbedaan cara pengeringan simplisia daun, yaitu dengan metode pengeringan oven dan sinar matahari dapat mempengaruhi kandungan senyawa fenolik dan flavonoid totalnya dalam ekstrak sehingga dapat berpengaruh terhadap aktivitas antioksidannya.