

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Perkembangan zaman modern yang ditandai dengan meningkatnya aktivitas manusia dan paparan lingkungan yang merusak tubuh seperti polusi udara, asap rokok dan pengolahan makanan tidak sehat, memicu terbentuknya radikal bebas secara terus-menerus dalam tubuh (Chaudhary *et al.*, 2023). Radikal bebas merupakan molekul yang relatif tidak stabil, memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan. Molekul ini bersifat destruktif, sangat reaktif dan mampu bereaksi dengan makromolekul sel seperti protein, lipid, karbohidrat atau DNA, yang pada akhirnya dapat menyebabkan kerusakan sel, jaringan, hingga organ tubuh (Kesuma, 2015). Kerusakan ini meningkatkan risiko berbagai penyakit degeneratif seperti penyakit jantung, diabetes melitus dan kanker (Chaudhary *et al.*, 2023).

Untuk mencegah dan menghambat kerja radikal bebas, diperlukan adanya antioksidan. Antioksidan adalah senyawa yang dapat memberikan elektron kepada molekul radikal bebas dan memutus reaksi berantai dari radikal bebas (Ighodaro *and* Akinloye, 2018). Tubuh kita secara alami memproduksi antioksidan eksogen yaitu superoksida dismutase (SOD), glutathione peroksida (GSH Px) dan katalase. Namun, paparan radikal bebas yang berlebihan dari luar tubuh dapat menyebabkan stress oksidatif, yaitu kondisi ketidakseimbangan antara pembentukan dan penentralisasian radikal bebas, yang pada akhirnya menyebabkan kerusakan sel (Nurkhasanah dkk., 2023).

Tubuh kita tidak mempunyai cadangan antioksidan dalam jumlah yang berlebih, sehingga perlu adanya antioksidan yang berasal dari luar tubuh (eksogen) (Kesuma, 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) (Chaudhary et al., 2023). Namun, penggunaan antioksidan sintetik dapat menimbulkan adanya efek samping pada tubuh. *Butylated Hydroxy Anisol* (BHA) dan *Butylated Hydroxy Toluene* (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 dkk., 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 (Kesuma, 2015). Flavonoid merupakan metabolik 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 dkk., 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 dkk., 2015).

Binahong (*Anredera cordifolia*) merupakan salah satu tanaman yang memiliki kandungan antioksidan alami. Daun binahong mengandung senyawa bioaktif seperti saponin, alkaloid, flavonoid, dan tannin (Nurmeidiansyah, Almatlubi dan Alhuur, 2024). Tanaman ini dikenal bermanfaat sebagai antibakteri, antivirus, antiinflamasi, dan antioksidan, yang dapat mendukung kesehatan tubuh (Mustapa, 2020). Menurut penelitian

dari Prantika, Susanti dan Nofita (2024), ekstrak etanol daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) yang diperoleh melalui metode maserasi, memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Propionibacterium acnes* dengan kemampuan menghambat pertumbuhan kedua bakteri tersebut secara signifikan. Tidak hanya bersifat antibakteri, daun Binahong juga terbukti memiliki efek antiinflamasi. Pemberian ekstrak daun Binahong yang diekstrak melalui maserasi dengan pelarut etanol 70% selama 3 hari setelah daun dikeringkan di oven pada suhu 50°C dan dipotong kecil, mampu memberikan efek antiinflamasi pada mencit yang mengalami kolitis ulseratif akibat induksi asam asetat 3% (Prahesti, 2022). Selain itu, menurut penelitian Souhoka, Kapelle dan Sihasale (2021), ekstrak etanol daun Binahong yang diperoleh melalui metode maserasi dengan pelarut etanol 96% selama 24 jam memiliki aktivitas antioksidan kuat yang mampu menetralkan radikal bebas dan melindungi sel dari kerusakan oksidatif, sehingga berpotensi dalam pencegahan penyakit degeneratif serta mendukung pengembangan obat tradisional maupun modern.

Untuk mengekstrak senyawa kimia yang ada dalam simplisia daun binahong, dilakukan proses ekstraksi. Ekstraksi merupakan proses pemisahan kandungan kimia yang ada dalam tumbuhan dengan menggunakan pelarut tertentu (Mustapa, 2020). Proses ekstraksi melibatkan beberapa tahapan, yaitu pelarut menembus ke dalam padatan matriks, zat terlarut larut dalam pelarut, zat terlarut terdifusi keluar dari matriks, dan hasil ekstraksi zat terlarut dikumpulkan. Sifat-sifat pelarut ekstraksi, ukuran partikel bahan baku, suhu ekstraksi, dan durasi ekstraksi akan memengaruhi efisiensi ekstraksi. Pemilihan pelarut juga sangat penting dalam proses ini. Pemilihan pelarut perlu mempertimbangkan selektivitas, kelarutan, biaya, dan keamanan (Zhang, Lin and Ye, 2018). Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh perbedaan konsentrasi pelarut terhadap aktivitas

antioksidan dan kadar flavonoid daun binahong (*Anredera cordifolia*), guna mengoptimalkan pemanfaatannya sebagai sumber antioksidan alami.

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 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, dkk., 2017).

Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi adalah etanol. Etanol cocok digunakan untuk ekstraksi flavonoid karena dapat melarutkan hampir seluruh kandungan senyawa yang ada pada simplisia, baik senyawa polar maupun semi polar. Menurut Suryani (2016), pelarut polar yang biasa digunakan untuk ekstraksi flavonoid adalah etanol, metanol, etil asetat, aseton, air dan isopropanol. Dalam hal penyarian, etanol memiliki kelebihan dibandingkan dengan air dan metanol. Senyawa kimia yang mampu disari dengan etanol lebih banyak daripada penyari metanol dan air (Aminah, Tomayahu dan Abidin, 2017). Etanol juga sering digunakan karena harganya terjangkau, aman, dan tidak bersifat toksik. Pada penelitian ini, digunakan pelarut etanol dengan 3 konsentrasi yang berbeda yaitu etanol 50%, etanol 70% dan etanol 96%. Semakin kecil konsentrasinya, maka kepolaran campuran etanol-air akan semakin tinggi. Oleh karena itu, dapat diketahui bahwa etanol 50% lebih

polar dari etanol 70%, dan etanol 70% lebih polar dari etanol 96% (Riwanti dan Izazih, 2020).

Flavonoid yang berikatan dengan gula cenderung larut dalam air (polar), sedangkan aglikon yang kurang polar seperti isoflavan, flavanon, flavon, dan flavonol cenderung lebih mudah larut dalam pelarut semi polar (Purwaningsih dan Deskawati, 2021). Menurut penelitian dari Feriyanti, Maulanza dan Lubis (2021), jenis flavonoid yang diperoleh dari hasil isolasi dan identifikasi serbuk segar dan serbuk kering ekstrak etanol daun Binahong adalah flavonol. Flavonol merupakan jenis flavonoid yang berada dalam bentuk aglikonnya sehingga terdapat kemungkinan akan lebih terlarut dalam pelarut etanol 96%. Dapat diketahui bahwa diantara ketiga konsentrasi pelarut yang dipilih, etanol 96% merupakan pelarut yang mempunyai tingkat kepolaran terendah. Tetapi menurut Chaves *et al.*, (2020), senyawa flavonoid akan lebih larut dalam pelarut dengan kepolaran sedang. Penggunaan pelarut etanol dengan konsentrasi diatas 70% mengakibatkan penurunan flavonoid. Pelarut etanol diatas 70% kurang efektif untuk melarutkan senyawa flavonoid yang memiliki berat molekul rendah (Suhendra, Widarta dan Wiadnyani, 2019).

Namun, beberapa hasil penelitian lain tidak selalu menunjukkan bahwa etanol 70% merupakan pelarut terbaik dalam melarutkan senyawa flavonoid. Menurut penelitian oleh Riwanti, Izazih dan Amaliyah (2020) tentang pengaruh perbedaan konsentrasi etanol pada kadar flavonoid ekstrak etanol 50%, 70%, dan 96% *Sargassum polycystum*, kadar flavonoid tertinggi terdapat pada ekstrak etanol 70% *Sargassum polycystum*. Menurut penelitian oleh Luginda, Lovita dan Indriani (2018) tentang pengaruh variasi konsentrasi pelarut etanol 60%, 70%, 80%, dan 96% terhadap kadar flavonoid daun beluntas, kadar flavonoid tertinggi terdapat pada ekstrak etanol 60% daun beluntas. Menurut Novilia, Bintang dan Falah (2015)

tentang kandungan fitokimia, total fenol, dan flavonoid ekstrak buah harendong (*Melastoma affine* D. Don), kadar flavonoid tertinggi terdapat pada ekstrak etanol 96% buah harendong. Oleh karena itu, akan dilakukan penelitian untuk menyelidiki lebih lanjut konsentrasi pelarut yang optimal dalam ekstraksi daun binahong untuk menghasilkan kadar flavonoid dan aktivitas antioksidan paling baik.

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 (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), TOSC method (*Total Oxyradical Scavenging Capacity method*), dan FRAP method (*Ferric Reducing / Antioxidant Power method*) (Gülçin, 2020). Pemilihan metode yang digunakan perlu didasarkan pada beberapa pertimbangan, yaitu metode yang digunakan harus relevan secara biologis dengan bahan yang ingin diuji dan 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 *and* Apetrei, 2021).

Pada penelitian ini, metode pengujian yang akan digunakan yaitu metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). DPPH merupakan metode uji aktivitas antioksidan berdasarkan transfer elektron. Alasan pemilihan metode DPPH yaitu mudah diterapkan karena sifatnya yang lebih stabil daripada metode uji aktivitas antioksidan yang lain. DPPH bersifat stabil

pada suhu kamar dan dapat direduksi oleh molekul antioksidan. Metode DPPH juga diketahui lebih praktis dan cepat, serta telah terbukti akurat. Pada metode ini, DPPH berperan sebagai radikal bebas yang kemudian akan berikatan dengan molekul antioksidan yang terdapat pada sampel sehingga DPPH akan berubah menjadi senyawa non radikal. Pada pengujian menggunakan metode DPPH ini, sampel akan terbukti mengandung antioksidan jika terjadi perubahan warna dari ungu tua berubah menjadi warna kuning terang (Tristantini dkk., 2016). Perubahan warna tersebut merupakan tanda bahwa elektron dari radikal bebas DPPH telah berikatan dengan elektron dari antioksidan yang terdapat pada sampel. 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. Semakin kecil nilai IC_{50} menunjukkan semakin kuat pengikatan terhadap radikal bebas (Puspitasari dan Ningsih, 2016).

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh perbedaan konsentrasi pelarut etanol dalam melarutkan senyawa flavonoid dalam daun binahong dan terhadap aktivitas antioksidannya.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh perbedaan konsentrasi pelarut etanol terhadap kadar flavonoid ekstrak daun binahong?
2. Bagaimana pengaruh perbedaan konsentrasi pelarut etanol terhadap aktivitas antioksidan ekstrak daun binahong?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui pengaruh perbedaan konsentrasi pelarut etanol terhadap kadar flavonoid ekstrak daun binahong.

2. Mengetahui pengaruh perbedaan konsentrasi pelarut etanol terhadap aktivitas antioksidan ekstrak daun binahong.

1.4 Hipotesis Penelitian

1. Perbedaan konsentrasi pelarut, yaitu etanol 50%, etanol 70% dan etanol 96% berpengaruh terhadap kadar flavonoid ekstrak daun binahong, dengan etanol 70% menghasilkan kadar flavonoid yang lebih tinggi.
2. Perbedaan konsentrasi pelarut etanol, yaitu etanol 50%, etanol 70% dan etanol 96% berpengaruh terhadap kadar flavonoid ekstrak daun binahong, dengan etanol 70% menghasilkan aktivitas antioksidan paling kuat (nilai IC_{50} terendah).

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang pelarut etanol yang paling efektif dalam proses ekstraksi daun binahong, sehingga diperoleh kadar flavonoid dan aktivitas antioksidan yang tinggi. Secara khusus, hasil penelitian ini dapat menjadi referensi penting untuk penelitian selanjutnya yang bertujuan memaksimalkan pemanfaatan daun binahong sebagai obat tradisional.