

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Dewasa ini di jaman yang sudah modern terdapat berbagai macam jenis makanan dan minuman yang dijual di pasaran. Rasa manis tentunya menjadi faktor utama yang disukai oleh masyarakat, belum lagi didukung dengan penayangan iklan yang tak kalah menariknya untuk dicoba. Kondisi demikian mulai menyebabkan dampak negatif salah satunya yang sering dijumpai adalah penyakit diabetes melitus. Diabetes melitus (DM) adalah penyakit kronis yang menyebabkan gangguan metabolisme karbohidrat, lemak dan protein dengan komplikasi serius. Berbagai komplikasi dapat diakibatkan oleh rendahnya kontrol diabetes. Komplikasi tersebut antara lain berupa penyakit jantung, penyakit mikrovaskular pada mata sebagai penyebab kebutaan dan degenerasi retina (retinopati diabetik), katarak, kerusakan ginjal sebagai penyebab gagal ginjal serta kerusakan saraf tepi (neuropati diabetik). Penyakit diabetes melitus akan terdeteksi bilasindrom penyakit ini sudah berkembang dan terjadi komplikasi. Gaya hidup sehat dengan mengatur pola makan (diet) dan mengkonsumsi makanan nabati adalah salah satu cara untuk mencegah resiko penyakit diabetes melitus dan komplikasinya. Pencegahan komplikasi DM selain dengan mengatur pola makan juga dapat dilakukan dengan pengobatan secara tradisional yaitu menggunakan tanaman obat yang kaya akan senyawa antioksidan. Menurut Hanifa, Lukmayani dan Syafnir (2015) hubungan antara penyakit diabetes melitus dengan antioksidan adalah apabila terjadi peningkatan stress oksidatif (rasio radikal bebas/oksidan lebih besar daripada antiradikal bebas/antioksidan) pada tubuh pasien diabetes melitus, maka radikal bebas dengan jumlah yang banyak ini akan merusak sel-sel jaringan tubuh. Stress

oksidatif tersebut berasal dari asap kendaraan bermotor, asap rokok, air yang terpolusi, radiasi sinar ultraviolet dari sinar matahari dan makanan yang mengandung lemak tak jenuh. Oleh sebab itu, pasien DM memerlukan tambahan antioksidan dari luar tubuh untuk melindungi tubuh dari serangan radikal bebas yang berlebihan dan mencegah terjadi komplikasi diabetes melitus.

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan sehingga memiliki kecenderungan untuk memperoleh elektron dari substansi lain yang mengakibatkan radikal bebas sangat mudah menyerang sel-sel sehat dalam tubuh. Tingginya kadar radikal bebas dalam tubuh dapat memicu munculnya berbagai penyakit degeneratif. Penyakit tersebut antara lain diabetes melitus dan komplikasinya adalah penyakit jantung, katarak, *stroke*, ginjal, paru, dan liver. Radikal bebas yang merusak tubuh dapat dinetralisir oleh senyawa yang mengandung antioksidan. Fungsi dari senyawa antioksidan adalah membantu melindungi tubuh dari serangan radikal bebas dan meredam dampak negatifnya (Dewi, 2013).

Senyawa antioksidan adalah senyawa kimia yang berperan sebagai penghambat pembentuk radikal bebas dengan mencegah reaksi oksidasi dari rantai radikal bebas, menunda atau menghambat proses oksidasi dan memperlambat proses dari peroksidasi lipid. Tubuh memerlukan senyawa antioksidan yang merupakan suatu substansi penting yang mampu melindungi tubuh dari serangan radikal bebas dan dapat meredam dampak negatif yang disebabkan oleh radikal bebas. Berdasarkan sumbernya, senyawa antioksidan dibagi menjadi dua yaitu senyawa antioksidan sintetis dan senyawa antioksidan alami. Senyawa antioksidan sintetis yang sudah banyak digunakan adalah *Butylated Hydroxyanisole* (BHA) dan *Butylated*

Hydroxytoluene (BHT) sedangkan senyawa antioksidan alami yang terkandung dalam produk nabati misalnya vitamin E, vitamin C, β -karoten, senyawa turunan fenol seperti flavonoid, dan lain-lain (Dewi, 2013).

Pada penelitian ini menggunakan tanaman yang kaya akan senyawa antioksidan adalah kembang bulan (*Tithonia diversifolia*). Menurut Li *et al.* (2013) bahwa *Tithonia diversifolia* memiliki bioaktivitas yang luas termasuk antimalaria, antidiabetes, antiinflamasi, dan antikanker. Thongsom *et al.* (2013) menyatakan bahwa dalam ekstrak air daun kembang bulan ini mengandung senyawa antioksidan alami seperti asam tanat (tanin) dan flavonoid yang dapat menjaga fungsi sel β dan mencegah terjadi penyakit diabetes melitus. Hasil penelitiannya ditunjukkan dengan total fenol $55,92 \pm 4,45$ mg GAE /g *dry weight* dan kapasitas total senyawa antioksidan $93,09 \pm 37,91$ μ M TEAC /mg *dry weight*. Penelitian lain menyatakan ekstraksi serbuk simplisia *Tithonia Folium* dengan menggunakan metode maserasi dan pelarut etanol 95% menunjukkan adanya kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, monoterpenoid/ seskuioterpenoid, steroid/ triterpenoid, kuinon dan saponin. Hasil pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dan pembandingan vitamin C menunjukkan bahwa fraksi n-heksan memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} 3,874 ppm, sedangkan nilai untuk fraksi etil asetat, ekstrak etanol, fraksi air dan vitamin C berturut-turut adalah 3,992 ppm; 4,525 ppm; 11,588 ppm dan 2,958 ppm (Hanifa, Lukmayani dan Syafnir, 2015).

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antioksidan dari ekstrak ataupun fraksi dan membandingkan aktivitas antioksidan ekstrak terhadap hasil fraksinasinya. Berdasarkan penelitian terdahulu (Hanifa, Lukmayani dan Syafnir, 2015) yang sudah melakukan ekstraksi dengan

menggunakan maserasi, maka pada penelitian ini akan dilakukan ekstraksi menggunakan soxhletasi dengan pelarut etanol 96%, dilanjutkan fraksinasi menggunakan pelarut n-heksan dan etil asetat, kemudian dari ekstrak dan fraksi diperiksa pola kromatogramnya dengan KLT-autografi yang diidentifikasi golongan senyawanya dengan menggunakan larutan DPPH 0,13% dan 5 penampak bercak (AlCl_3 , FeCl_3 , Dragendorf, Lieberman-Burchard, dan Vanilin sulfat) setelah itu dilakukan penentuan IC_{50} . Kembang bulan merupakan tanaman dengan kandungan senyawa yang dapat diekstraksi dengan cara dingin dan cara panas. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstraksi panas dengan alat soxhletasi menggunakan pelarut etanol 96%. Menurut Rais (2014) pemilihan metode soxhletasi digunakan karena memiliki beberapa keuntungan antara lain pelarut yang digunakan lebih sedikit (efisiensi bahan) dan larutan sari yang dialirkan melalui sifon tetap tinggal dalam labu, sehingga pelarut yang digunakan untuk mengekstrak sampel selalu baru dan meningkatkan laju ekstraksi, waktu yang digunakan juga lebih cepat sehingga cara ini dianggap efektif dan efisien. Alasan menggunakan pelarut organik etanol 96% dalam proses ekstraksi adalah karena pelarut etanol 96% merupakan pelarut yang umum dan sering digunakan, selain memiliki harga yang terjangkau dan mudah diperoleh, pelarut etanol 96% memiliki sifat toksisitas yang jauh lebih rendah dibandingkan dengan pelarut organik lainnya seperti aseton dan metanol.

Tahap selanjutnya akan dilakukan proses fraksinasi. Proses fraksinasi dilakukan dengan metode ekstraksi cair-cair menggunakan pelarut n-heksan dan etil asetat. Penelitian Sibagariang (2013) menyatakan penggunaan pelarut n-heksan pada ekstraksi daun kembang bulan mampu menarik senyawa steroid/triterpenoid yang cukup besar sedangkan

penggunaan pelarut etil asetat mampu menarik senyawa glikosida dan flavonoid. Senyawa-senyawa antioksidan yang berhasil ditarik oleh pelarut-pelarut pada ekstrak dan fraksi *Tithonia diversifolia* akan dibandingkan IC_{50} nya. IC_{50} adalah konsentrasi larutan ekstrak yang menurunkan 50% intensitas serapan dibandingkan dengan larutan blanko. Metode KLT-autografi digunakan untuk memisahkan senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan. Metode ini dipilih karena merupakan metode skrining pendeteksi senyawa antioksidan yang cepat dan efisien. Kromatogram disemprot dengan larutan *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH) 0,13%; selanjutnya dilakukan penentuan IC_{50} dengan metode DPPH yang menggunakan Multiskan GO UV/Vis *microdilution plate spectrophotometer*. Menurut Kirmizibekmez *et al.* (2015) metode dengan menggunakan mikrodilusi ini merupakan cara yang praktis daripada metode dilusi. Nilai IC_{50} dari ekstrak hasil soxhletasi dan fraksi *Tithonia diversifolia* akan dibandingkan dengan rutin dan vitamin C. Rutin merupakan glikosida dari kuersetin dan kuersetin merupakan senyawa golongan flavonol. Insie (2013) menyatakan bahwa standar nilai IC_{50} rutin dan vitamin C masing-masing adalah 8,05 $\mu\text{g/ml}$ dan 6,04 $\mu\text{g/ml}$. Menurut Jun *et al.* (2006) penentuan nilai IC_{50} ini dapat dinyatakan dalam tingkatan kekuatan antioksidan sangat aktif atau berpotensi apabila makin kecil nilai IC_{50} nya (kurang dari 50 ppm). Golongan senyawa metabolit sekunder yang diharapkan berfungsi sebagai senyawa antioksidan yaitu golongan polifenol karena antioksidan alami umumnya mempunyai gugus hidroksil pada struktur molekulnya dan salah satu senyawa yang mempunyai gugus hidroksil pada strukturnya adalah senyawa fenolik. Konfigurasi dan total gugus hidroksil merupakan dasar yang sangat mempengaruhi mekanisme aktivitasnya sebagai antioksidan (Miryanti *et al.*, 2011).

1.2. Rumusan masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di atas maka didapat rumusan masalah penelitian sebagai berikut :

1. Sampel manakah yang memiliki aktivitas antioksidan terkuat ditinjau dari nilai IC_{50} nya?
2. Golongan senyawa metabolit sekunder apakah yang berfungsi sebagai senyawa antioksidan?

1.3. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian dengan judul uji *in vitro* antioksidan pada ekstrak hasil soxhletasi dan fraksi dari kembang bulan ini adalah :

1. Untuk menentukan sampel manakah yang memiliki aktivitas antioksidan terkuat ditinjau dari nilai IC_{50} nya.
2. Untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder yang berfungsi sebagai senyawa antioksidan.

1.4. Hipotesa Penelitian

Hipotesis dari penelitian ini adalah :

1. Fraksi *Tithonia diversifolia* merupakan antioksidan sangat aktif yang ditunjukkan dengan nilai IC_{50} lebih kecil daripada nilai IC_{50} ekstraknya.
2. Golongan polifenol merupakan golongan senyawa metabolit sekunder dari ekstrak dan fraksi *Tithonia diversifolia* yang berfungsi sebagai senyawa antioksidan.

1.5. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah diharapkan dapat dibuktikan secara ilmiah tentang analisis golongan senyawa metabolit sekunder dari *Tithonia diversifolia* yang berpotensi sebagai senyawa antioksidan sehingga senyawa ini nantinya dapat diformulasikan selanjutnya dalam pengobatan yang aman dan efektif untuk mencegah komplikasi penyakit diabetes melitus.