

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Risiko kesehatan pada manusia meningkat seiring dengan tingginya paparan radikal bebas. Radikal bebas merupakan molekul yang sangat reaktif yang memiliki elektron tidak berpasangan dalam orbital terluarnya (Salamah et al. 2015). Radikal bebas ini banyak kita temui di kehidupan sehari-hari, baik yang berasal dari luar tubuh (sumber eksogen) maupun dari dalam tubuh (sumber endogen) (Gusrav 2007). Sumber eksogen berupa polusi, alkohol, asap tembakau, logam berat, logam transisi, pelarut industri, pestisida, obat-obatan tertentu seperti halotan, parasetamol, dan radiasi. Sedangkan sumber endogen adalah mitokondria, peroksisom, retikulum endoplasma, sel fagositik dan lainnya (Phaniendra, Jestadi, & Periyasamy 2015).

Radikal bebas yang jumlahnya berlebih dalam tubuh akan mengakibatkan terjadinya stres oksidatif, sehingga dapat mengakibatkan kerusakan oksidatif pada tingkat sel, jaringan hingga organ tubuh yang akan mempercepat terjadinya proses penuaan dan timbulnya penyakit (Euis, 2018). Stres oksidatif yang terjadi akibat radikal bebas dilaporkan terlibat dalam timbulnya beberapa penyakit seperti diabetes mellitus, kelainan neurodegeneratif (penyakit Parkinson, penyakit Alzheimer, penyakit kardiovaskular (aterosklerosis dan hipertensi), penyakit saluran pernapasan (asma), katarak, rheumatoid arthritis dan berbagai keganasan (kanker kolorektal, kanker prostat, kanker payudara, kanker paru dan kanker kandung kemih) (Phaniendra, Jestadi, & Periyasamy 2015). Studi epidemiologi menyatakan bahwa beberapa tanaman dan buah-buahan dapat berfungsi untuk melindungi tubuh manusia terhadap bahaya radikal bebas. Hal ini dikarenakan adanya potensi antioksidan yang terdapat dalam tanaman dan buah-buahan seperti fenol, flavonoid, vitamin C dan E, katekin, karoten, dan resveratrol (Hernani & Rahardjo 2006).

Antioksidan merupakan senyawa kimia yang dapat menyumbangkan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas, sehingga radikal bebas tersebut dapat diredam (Sayuti & Yenrina 2015). Berdasarkan sumbernya, antioksidan dapat dibagi menjadi dua yaitu antioksidan endogen dan antioksidan eksogen. Antioksidan endogen merupakan antioksidan enzimatik yang meminimalisir kerusakan oksidatif dengan cara mengkatalisis suatu reaksi kimia untuk menetralkan radikal bebas. Contoh antioksidan endogen yaitu *glutathione peroxidase*, *catalase*, dan *superoxidedismutase* (SOD). Tetapi bila jumlah radikal bebas dan spesies reaktif di dalam tubuh kita melebihi kapasitas antioksidan endogen, maka tubuh kita akan memerlukan asupan antioksidan eksogen (Werdhasari 2014).

Antioksidan eksogen diperoleh dari luar tubuh untuk tetap memenuhi kebutuhan antioksidan dalam tubuh. Antioksidan eksogen dapat dibagi menjadi dua yaitu antioksidan eksogen yang bersifat alami seperti vitamin, flavonoid, antosianin, dan antioksidan eksogen yang bersifat sintetik seperti *butylhydroxyanisole*, *butylhydroxytoluene* dan *gallates* (Anuj et al. 2016). Sumber antioksidan eksogen yang banyak digunakan adalah bersumber dari tumbuhan, karena tumbuhan memiliki senyawa golongan metabolit sekunder yang dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan (Hanifa & Susilawati 2017). Hal tersebut membuat minat terhadap bahan pangan yang mengandung antioksidan terus meningkat. Kekhawatiran akan kemungkinan efek samping yang belum diketahui dari antioksidan sintetik menyebabkan antioksidan alami menjadi salah satu alternatif yang sangat dibutuhkan. Indonesia merupakan negara kepulauan yang terdapat banyak bahan pangan lokal yang dapat dijadikan sebagai sumber antioksidan alami (Inggrid & Santoso 2014).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa adanya tumbuhan yang terbukti bermanfaat melindungi tubuh manusia dari bahaya radikal bebas, karena adanya senyawa antioksidan yang terdapat dalam tumbuhan tersebut. Salah satu tanaman yang terbukti memiliki aktivitas antiinflamasi dan antioksidan adalah Kakao (*Theobroma cacao* L.). Biji kakao saat ini juga banyak diteliti dikarenakan

memiliki kandungan flavonoid yang sangat tinggi. Biji kakao memiliki kandungan flavanol tertinggi dibandingkan jenis bahan makanan lainnya. Kandungan flavonoid yang tinggi, menyebabkan biji kakao memiliki aktivitas antioksidan dan antiinflamasi (Kurniawati 2019).

Untuk membuktikan adanya senyawa antioksidan pada biji kakao maka dilakukan penelitian mengenai aktivitas antioksidan yang terkandung dalam biji kakao. Pada penelitian ini diawali dengan pembuatan ekstrak menggunakan metode maserasi. Metode ini dipilih dikarenakan metode yang paling sederhana, alatnya mudah didapatkan, dan tidak merusak kandungan senyawa yang tidak tahan panas (Pertiwi et al. 2016). Hasil yang diperoleh dari maserasi, dilakukan penguapan ekstrak menggunakan *rotary evaporator*. Penggunaan alat ini dipilih karena mampu menguapkan pelarut dibawah titik didih sehingga zat yang terkandung didalam ekstrak tidak rusak oleh suhu tinggi (Pangestu & Handayani 2011).

Hasil yang diperoleh dari penguapan berupa ekstrak kental. Ekstrak kental ini kemudian dilakukan fraksinasi untuk memisahkan senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya (Agung Nugroho 2017). Pelarut yang digunakan dalam proses fraksinasi adalah n-heksana sebagai pelarut non polar (Nurjanah et al. 2016). dan n-butanol sebagai pelarut polar (Sianipar NF, Maarisit W & Valencia A 2013). Metode yang digunakan dalam fraksinasi adalah metode ekstraksi cair-cair menggunakan corong pisah (Eliyarti et al. 2020). Hasil yang diperoleh dari fraksinasi, dilakukan penguapan menggunakan *rotary evaporator*.

Hasil yang diperoleh dari penguapan berupa fraksi kental. Fraksi kental ini kemudian dilakukan pengujian skrining fitokimia, yaitu merupakan tahap pendahuluan dalam suatu penelitian fitokimia yang bertujuan memberi gambaran tentang golongan senyawa yang terkandung dalam tanaman yang diteliti. Metode skrining fitokimia yang dilakukan dengan melihat reaksi pengujian warna dengan menggunakan suatu pereaksi warna. (Kristanti et al. 2008). Pada penelitian ini dilakukan pengujian skrining skrining fitokimia pada uji senyawa flavonoid,

untuk mengetahui ada atau tidaknya senyawa flavonoid yang terkandung pada masing-masing fraksi kental.

Dalam pengujian aktivitas antioksidan digunakan metode DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil*) (Salamah et al. 2015). Metode DPPH dipilih karena memerlukan sedikit sampel, sederhana, mudah, cepat, dan peka untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan dari senyawa bahan alam. Pada metode ini, DPPH bertindak sebagai model radikal bebas yang akan berikatan dengan senyawa antioksidan (Lailia 2015). Metode DPPH bekerja dengan mengukur daya peredaman sampel terhadap radikal bebas DPPH. DPPH akan bereaksi dengan atom hidrogen dari senyawa peredaman radikal bebas membentuk DPPH yang lebih stabil. Senyawa peredaman radikal bebas yang bereaksi dengan DPPH akan menjadi radikal baru yang lebih stabil atau senyawa bukan radikal (Hasibuan 2017).

Berdasarkan latar belakang diatas, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian terhadap aktivitas antioksidan pada fraksi n-heksana dan n-butanol dari ekstrak etanol biji kakao (*Theobroma cacao* L.) secara *in vitro* dengan metode pengujian DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil*) menggunakan Spektrofotometer UV-Vis.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas dapat dirumuskan rumusan masalah yaitu, apakah fraksi n-heksana dan n-butanol dari ekstrak etanol biji kakao (*Theobroma cacao* L.) memiliki aktivitas antioksidan secara *in vitro* dengan metode pengujian DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhdrazil*) menggunakan Spektrofotometer UV-Vis ?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan pada fraksi n-heksana dan n-butanol dari ekstrak etanol biji kakao (*Theobroma cacao* L.) secara *in vitro* dengan metode pengujian DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhdrazil*) menggunakan Spektrofotometer UV-Vis.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah ilmu pengetahuan mengenai adanya senyawa antioksidan yang terdapat pada biji kakao.

1.4.2 Manfaat Praktis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat dalam upaya pemanfaatan dan pengembangan senyawa antioksidan dari biji kakao.