

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Dalam tubuh manusia banyak sekali proses biologis alami yang terjadi, seperti melakukan pertukaran oksigen, karbon dioksida, mencerna makanan, memetabolisme makanan dan obat-obatan, serta mengubah lemak menjadi energi. Tidak hanya itu, tubuh juga dapat menghasilkan radikal bebas (Rad *et al.*, 2020). Apabila tubuh memproduksi radikal bebas berlebih maka tubuh akan mengalami suatu kondisi yang disebut dengan stres oksidatif (Kowalczyk *et al.*, 2021). Stres oksidatif merupakan suatu kondisi ketidakseimbangan antara prooksidan (radikal bebas) dan antioksidan dalam tubuh. Kondisi tersebut dapat mengakibatkan terganggunya proses pensinyalan dalam tubuh dan juga dapat berdampak negatif terhadap beberapa struktur seluler, seperti membran, lipid, protein, lipoprotein, dan juga DNA (Pizzino *et al.*, 2017).

Stres oksidatif dapat menyebabkan penyakit baik penyakit kronis atau akut dan mempercepat proses penuaan sel. Stres oksidatif dapat menstimulasi respons imun tubuh dan menyebabkan penyakit alergi, seperti asma, rinitis alergi, dermatitis atopik, atau alergi makanan (Rad *et al.*, 2020). Pada kondisi yang berkepanjangan, stres oksidatif bahkan dapat menyebabkan berbagai kondisi patologis yang mengancam jiwa seperti penyakit kardiovaskular, penyakit pada pernapasan, rheumatoid arthritis, gangguan neurologis, penyakit hati, ginjal, diabetes, dan kanker (Hajam *et al.*, 2022). Dalam data yang dikeluarkan oleh Rikesdas (2018), prevalensi penyakit kardiovaskular mencapai angka 34,1% untuk hipertensi, diikuti stroke 10,9%, asma 4,5%, CKD 3,8%, DM 2%, dan kanker 1% (Kemenkes, 2018).

Stres oksidatif dapat dipicu oleh dua kondisi umum, yaitu kelebihan produksi radikal bebas dan juga kekurangan produksi antioksidan (Utami & Sitompul, 2023). Radikal bebas dihasilkan dari metabolisme endogen sel maupun dari faktor lingkungan (eksogen) (Prasetyaningsih *et al.*, 2023). Radikal bebas endogen dihasilkan sebagai produk sampingan dari proses metabolisme aerobik dan aktivitas enzimatik yang terjadi dalam tubuh (Almeida *et al.*, 2022).

Dalam sel, sumber utama radikal bebas berasal dari metabolisme intraseluler seperti mitokondria dan NADPH oksidase (NOX). Sumber radikal bebas lainnya yaitu sintase NO tak berpasangan, sitokrom p450, xantin oksidase (XO), retikulum endoplasma, peroksidase, dan siklooksigenase (Almeida *et al.*, 2022). Sedangkan radikal bebas eksogen disebabkan oleh polusi udara, nutrisi, alkohol, obat-obatan, logam berat, paparan sinar matahari, dan logam transisi (Almeida *et al.*, 2022).

Konsentrasi radikal bebas dalam tubuh dipertahankan melalui sistem homeostasis hidup yang dikenal sebagai antioksidan. Antioksidan menghambat terjadinya reaksi oksidasi dengan cara mendonorkan elektronnya. Antioksidan sendiri dapat diklasifikasikan menjadi antioksidan endogen dan antioksidan eksogen. Antioksidan endogen dibagi menjadi kompleks enzimatis seperti superoksida dismutase (SOD), katalase (CAT), glutathione peroksidase (GPx), glutathione reduktase (GRx), dan kompleks antioksidan non-enzimatis seperti asam lemak, glutathione, L-arginin, asam urat, bilirubin (Almeida *et al.*, 2022). Antioksidan endogen tidak dapat menetralkan radikal bebas secara berlebihan, maka dari itu diperlukan antioksidan eksogen. Antioksidan endogen dan eksogen adalah pemulung radikal bebas yang efektif yang bekerja dengan cara memberikan elektronnya kepada radikal bebas sehingga menetralkan efek negatif dari radikal bebas (Martemucci *et al.*, 2022)

Berdasarkan sumbernya, antioksidan eksogen dapat dibagi menjadi dua jenis yakni alami dan sintetis. Beberapa contoh dari antioksidan sintetis yaitu butil hidroksil anisol (BHA), butil hidroksil toluene (BHT), dan tetra butil hidroksil quinon (TBHQ). Sedangkan antioksidan alami merupakan antioksidan yang diperoleh bahan-bahan alami seperti halnya dari tanaman sayuran ataupun dari buah-buahan (Anggarani *et al.*, 2023). Umumnya antioksidan sintetis memiliki Aktivitas antioksidan yang konstan, lebih aktif dan murni dibandingkan antioksidan alami, namun penggunaannya harus memperhatikan toksisitas dan keamanan dari penggunaan (Stoia & Oancea, 2022). Antioksidan sintetis seperti BHA dan BHT dikatakan berpotensi karsinogenik dan meracuni hewan coba, sehingga penggunaannya dibatasi (Islamiyati *et al.*, 2024). Maka dari itu penggunaan

antioksidan alami diperlukan. Salah satu tanaman yang mengandung antioksidan alami adalah kakao (*Theobroma cacao* L.).

Salah satu bagian dari tanaman kakao yang telah digunakan secara global untuk keperluan baik dalam industri makanan, kosmetik, bahkan farmasi adalah biji kakao (Khoidir, 2023). Proporsi kandungan terbesar biji kakao adalah lemak, yaitu berkisar 48%-57% (Marie *et al.*, 2021). Biji kakao diketahui mengandung makronutrien (protein, karbohidrat, lemak, dan serat), mikronutrien (vitamin A, vitamin E, tiamin, riboflavin, dan niacin), dan mineral (Na, K, Ca, P, Fe, Mg, dan Cu). Selain itu biji kakao memiliki kandungan senyawa bioaktif fenolik, seperti polifenol dan flavonoid yang berfungsi sebagai antioksidan (Edo *et al.*, 2023). Kakao diketahui memiliki kandungan antioksidan yang kuat (Llerena *et al.*, 2023). Kandungan antioksidan yang tinggi pada kakao dapat melawan radikal bebas dan pelindung dari berbagai macam penyakit (Melo *et al.*, 2021). Selain itu terdapat senyawa bioaktif lain seperti alkaloid, terpenoid, saponin, glikosida, minyak esensial, dan fitosterol (Edo *et al.*, 2023).

Komponen bioaktif yang terkandung dalam biji kakao dapat di peroleh melalui proses ekstraksi dengan pelarut yang sesuai. Beberapa faktor yang menjadi pertimbangan dalam memilih pelarut yaitu kemudahan dalam memperoleh pelarut, harga pelarut, kestabilan pelarut, bereaksi netral, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar, dan tidak mempengaruhi zat berkhasiat (Istiqomah *et al.*, 2021). Selain itu perbedaan kepolaran juga menjadi pertimbangan dalam memilih pelarut. Proses pemisahan senyawa oleh pelarut akan terjadi berdasarkan prinsip “*like dissolved like*” dimana pelarut polar akan melarutkan senyawa polar, begitu pula sebaliknya (Dewatisari, 2020). Perbedaan kepolaran pelarut dapat mempengaruhi nilai rendemen ekstraksi, inhibisi penghambatan radikal bebas, dan juga IC_{50} (Abdussalam *et al.*, 2020).

Proses ekstraksi pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode ekstraksi bertingkat dan ekstraksi pelarut tunggal. Tujuan dari ekstraksi bertingkat yaitu untuk untuk menghilangkan kandungan lemak pada ekstrak kakao. Kandungan lemak tinggi pada kakao dapat mengganggu proses penangkapan radikal bebas oleh senyawa antioksidan seperti polifenol atau flavonoid (Tasanif *et al.*, 2023). Penelitian

oleh Alim *et al.*, (2022) memperoleh nilai IC_{50} ekstrak etanol biji alpukat sebesar $37,7475 \pm 0,0441 \mu\text{g/mL}$. Penelitian lain pada pada sampel yang sama dengan perbedaan variasi pelarut menunjukkan nilai IC_{50} terbaik dimiliki oleh ekstrak etanol sebesar $23,07 \pm 1,63 \mu\text{g/mL}$ (Rachman *et al.*, 2021). Penelitian terdahulu terkait pengaruh jenis pelarut terhadap kadar total fenolik, aktivitas antioksidan dan toksisitas ekstrak buah ciplukan, perbedaan jenis pelarut terbukti mempengaruhi variabel-variabel tersebut secara signifikan (Julianti *et al.*, 2019). Penelitian terdahulu menguji aktivitas antioksidan biji kakao dengan menggunakan pelarut etanol, diperoleh nilai IC_{50} sebesar $159,118 \mu\text{g/mL}$ dimana aktivitas antioksidannya termasuk kedalam kategori lemah. Kandungan lemak yang tinggi pada kakao dapat menjadi pengganggu dalam proses penangkapan radikal bebas oleh senyawa antioksidan (Tasanif *et al.*, 2023). Untuk menghilangkan kandungan lemak, maka perlu dilakukan ekstraksi bertingkat.

Dari uraian tersebut, peneliti tertarik untuk meneliti bagaimana pengaruh perbedaan ekstraksi pelarut bertingkat dan ekstraksi pelarut tunggal terhadap aktivitas antioksidan dan kadar fenolik pada biji kakao (*Theobroma cacao* L.) dengan menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan, dapat dilihat rumusan masalah yaitu sebagai berikut.

1. Apakah ekstraksi pelarut bertingkat dan ekstraksi pelarut tunggal pada biji kakao (*Theobroma cacao* L.) dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan?
2. Bagaimanakah kadar total fenolik pada ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao* L.) pada ekstraksi pelarut bertingkat dan ekstraksi pelarut tunggal?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui perbedaan ekstraksi pelarut bertingkat dan ekstraksi pelarut tunggal terhadap aktivitas antioksidan dari biji kakao (*Theobroma cacao* L.).
2. Untuk mengetahui kadar total fenolik ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao* L.) pada ekstraksi pelarut bertingkat dan ekstraksi pelarut tunggal.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Praktis

Dengan dilakukannya penelitian ini, diharapkan hasil penelitian dapat dijadikan salah satu acuan bagi peneliti berikutnya untuk optimalisasi penelitian terhadap aktivitas antioksidan dan kadar total fenolik pada ekstrak kakao (*Theobroma cacao* L.). Selain itu pada bidang yang lebih tinggi diharapkan penelitian ini dapat dijadikan salah satu acuan untuk metode ekstraksi dan juga meningkatkan nilai ekonomis kakao (*Theobroma cacao* L.).

1.4.2 Manfaat Teoritis

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah dan tambahan ilmu pengetahuan tentang ekstraksi bertingkat dan ekstraksi pelarut tunggal terhadap aktivitas antioksidan dan kadar total fenolik pada ekstrak kakao (*Theobroma cacao* L.).

