

# BAB I. PENDAHULUAN

## 1.1 Latar Belakang

Stroberi (*Fragaria x ananassa*) merupakan tanaman golongan beri-berian yang saat ini dikategorikan sebagai “komponen fungsional” karena memiliki nilai gizi yang tinggi, terutama kaya akan kandungan senyawa fenolik, flavonoid, vitamin, mineral, dan serat makanan (Padmanabhan et al., 2016). Hal ini dibuktikan dengan stroberi berada pada peringkat No. 9 dalam daftar 100 sumber fenol makanan terkaya yang menyediakan 390 mg total fenol per porsi. Ekstrak stroberi memberikan kontribusi positif terhadap kesehatan tubuh, seperti anti-inflamasi, antikanker, antidiabetik, dan antikarsinogenik karena kandungan senyawa fenoliknya, dengan antosianin sebagai komponen utama yang berperan besar di dalamnya (H. Huang et al., 2024). Mengingat tingginya kandungan antosianin dalam stroberi, namun sifatnya yang sensitif dan mudah terdegradasi, maka sangat penting untuk menemukan metode ekstraksi yang efektif dalam pemanfaatan stroberi pada bidang pangan.

Ekstraksi merupakan tahapan yang sangat penting dalam pemanfaatan tanaman secara komprehensif untuk memperoleh senyawa bioaktif yang diperlukan dengan rendemen yang optimal tanpa mengurangi fungsi fisiologisnya (Zhang et al., 2024). Namun, untuk memperoleh senyawa bioaktif terutama antosianin dalam ekstrak stroberi seringkali menggunakan metode konvensional yang dapat mengalami gangguan dalam efisiensi dan selektivitas perolehan senyawa yang diinginkan. Penggunaan pelarut konvensional seperti metanol dan etanol dapat menimbulkan masalah kesehatan karena efek toksisitasnya dan tidak ramah lingkungan (Mehariya et al., 2021). Oleh karena itu, diperlukan pengembangan konsep *green chemistry* dengan

mengganti pelarut konvensional menjadi pelarut alternatif yang terbaru dan ramah lingkungan.

*Natural Deep Eutectic Solvents* (NADES) merupakan jenis pelarut alternatif ramah lingkungan yang terdiri dari campuran dua atau lebih komponen yang dapat membentuk cairan eutektik pada suhu kamar. NADES terbentuk dari *hydrogen bond acceptors* (HBA, seperti kolin klorida) dan *hydrogen bond donors* (HBD, seperti asam amino, asam organik, dan glukosa). Ekstraksi menggunakan NADES memungkinkan interaksi langsung dengan senyawa target atau interaksi tidak langsung dengan rantai molekul selulosa pada dinding sel. Hal ini dapat menghancurkan dinding sel dan melepaskan senyawa target dari matriks tanaman, sehingga meningkatkan efisiensi proses ekstraksi. NADES berasal dari senyawa yang dapat terbiodegradasi sehingga dapat meminimalisir dampak lingkungan dan kesehatan dari penggunaan dan pembuangan pelarut (Airouyuwa et al., 2022).

Metode ekstraksi tidak hanya mempengaruhi kuantitas hasil ekstrak, tetapi juga penting untuk memahami karakteristik kimia dari senyawa yang diekstrak. Salah satu pendekatan yang digunakan untuk memahami gugus fungsional dari senyawa hasil ekstraksi adalah *Fourier Transform Infrared* (FTIR). Metode ini memungkinkan identifikasi gugus fungsi utama dalam suatu senyawa berdasarkan vibrasi spesifik dari ikatan kimianya. FTIR berfungsi dalam membandingkan hasil ekstraksi dari berbagai pelarut, karena dapat menunjukkan perubahan atau perbedaan intensitas serapan gugus fungsi seperti -OH (hidroksil), C=O (karbonil), dan C=C (aromatik) yang umum ditemukan dalam senyawa fenolik dan antosianin (Nhon et al., 2022). Oleh karena itu, analisis FTIR dapat memberikan gambaran awal mengenai gugus fungsi yang ada dalam ekstrak stroberi yang dihasilkan dari pelarut konvensional dan NADES.

Namun demikian, spektrum FTIR menghasilkan data multivariat yang kompleks yang seringkali tumpang tindih antar puncak, maka diperlukan teknik statistik lanjut analisis kemometrik seperti *Principal Component Analysis* (PCA). PCA digunakan untuk menyederhanakan keragaman data FTIR dan mengekstraksi informasi utama yang bertanggung jawab atas perbedaan antar sampel (Jolliffe & Cadima, 2016). Dengan PCA, perbedaan pola kimia antar ekstrak dari pelarut konvensional dan NADES dapat divisualisasikan secara lebih sistematis dan objektif dalam bentuk *score plot* yang menggambarkan hubungan antar komponen utama. Analisis ini tidak hanya membantu membedakan ekstrak berdasarkan jenis pelarut, tetapi juga memvalidasi sejauh mana NADES mempengaruhi spektrum kimia dari ekstrak stroberi.

Selain mengidentifikasi gugus fungsional melalui FTIR, penting juga untuk mengetahui jenis dan konsentrasi senyawa bioaktif secara spesifik. Untuk itu, diperlukan pemahaman kompleksitas ekstrak stroberi menggunakan LC-MS/MS. LC-MS/MS merupakan teknik analisis yang sangat sensitif dan selektif untuk mendeteksi serta mengkuantifikasi senyawa metabolit sekunder seperti antosianin. Metode ini mampu memisahkan senyawa berdasarkan polaritas melalui kromatografi cair, kemudian mengidentifikasi massa molekul dan fragmen spesifiknya melalui deteksi spektrometri massa. Dalam konteks ekstrak stroberi, LC-MS/MS mampu mengidentifikasi jenis antosianin seperti pelargonidin 3-O-glucoside, cyanidin 3-O-glucoside, dan derivat lainnya yang keberadaannya sangat dipengaruhi oleh jenis pelarut dalam proses ekstraksi (Dzhanfezova et al., 2020).

Penelitian sebelumnya melakukan ekstraksi stroberi menggunakan NADES dengan lima jenis kombinasi asam organik, yaitu asam sitrat, asam oksalat, asam malat, asam tartrat, dan asam laktat. Penelitian ini membuktikan bahwa ekstrak

stroberi berbasis NADES menghasilkan perolehan kuantitas yang tinggi pada aktivitas antioksidan, total antosianin, dan total fenol jika dibandingkan dengan pelarut konvensional yang dijadikan sebagai kontrol perlakuan (Karimah, 2024). Dengan demikian, untuk memperoleh pemahaman yang lebih mendalam, dilakukan penelitian lanjutan menggunakan analisis kemometrik PCA serta mengidentifikasi dan mengkuantifikasi jenis senyawa antosianin yang terdapat pada ekstrak stroberi berbasis NADES dan membandingkannya dengan ekstrak stroberi berbasis pelarut konvensional.

Selain mengidentifikasi gugus fungsi dan jenis senyawa antosianin yang berdampak terhadap ekstrak menggunakan FTIR dan LC-MS/MS, pengujian toksisitas juga merupakan salah satu aspek penting untuk mengetahui tingkat keamanan dan efek berbahaya yang ditimbulkannya. Uji toksisitas biasanya dilakukan untuk mengetahui sejauh mana kuantitas sediaan uji yang diberikan. Pengujian toksisitas akut merupakan salah satu jenis pengujian toksisitas awal dengan mengamati efek yang ditimbulkan pada objek percobaan *in vivo* (hewan) dengan dosis tunggal pemberian sediaan serta menguji secara kualitatif tingkat keamanan secara akut dari sediaan yang digunakan pada objek percobaan (Amalina et al., 2021). Meskipun NADES dianggap aman, senyawa bioaktif hasil ekstraksi menggunakan pelarut ini perlu dievaluasi toksisitasnya untuk memastikan bahwa proses ekstraksi dan penggunaan pelarut tidak meningkatkan resiko toksik.

Sejauh ini penelitian mengenai efek toksisitas penggunaan ekstrak tanaman menggunakan metode pengujian toksisitas akut tidak sampai pada tahap mematikan hewan uji. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh dan yang mengevaluasi efek pemberian ekstrak tanaman terhadap toksisitas akut pada mencit. Namun, pada penelitian tersebut mengkaji *gross* patalogi, perubahan berat badan, bobot organ, dan

perubahan histopatologi organ mencit sebagai upaya untuk memvalidasi lebih lanjut efek samping dari pemberian ekstrak tanaman. Oleh karena itu, dilakukan pengujian toksisitas penggunaan ekstrak stroberi berbasis NADES untuk mengetahui batas aman penggunaan dan efek samping yang ditimbulkan pada hewan uji. Dengan demikian, ekstrak stroberi berbasis NADES dapat menjadi alternatif yang menarik untuk meningkatkan produk pangan dan nutrasetikal yang siap pakai.

Penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi profil metabolit ekstrak stroberi berbasis NADES dan mengevaluasi uji toksisitas akut terhadap mencit. Adanya pemahaman yang lebih mendalam mengenai senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak stroberi melalui pendekatan kemometrik serta pengujian toksisitasnya diharapkan dapat memberikan kontribusi yang signifikan dalam peningkatan kualitas keamanan pangan dan kesehatan. Penelitian ini dapat menjadi publikasi yang menggunakan pendekatan kemometrik untuk melihat perbandingan profil metabolit ekstrak stroberi menggunakan NADES dengan ekstrak stroberi menggunakan pelarut konvensional. Lebih lanjut, mengevaluasi batas penggunaan ekstrak stroberi menggunakan NADES yang diujikan secara *in vivo* sehingga dapat diaplikasikan pada produk pangan berbasis ekstrak alami yang aman dan berkelanjutan.

## 1.2 Masalah Penelitian

1. Bagaimana karakteristik gugus fungsi senyawa dalam ekstrak stroberi menggunakan NADES dibandingkan dengan ekstrak stroberi menggunakan pelarut konvensional berdasarkan analisis spektrum FTIR?
2. Apakah analisis kemometrik PCA terhadap data FTIR mampu membedakan secara jelas profil kimia ekstrak berdasarkan jenis pelarut yang digunakan?

3. Bagaimana perbedaan profil senyawa antosianin secara kualitatif dan kuantitatif antara ekstrak stroberi menggunakan NADES dan ekstrak stroberi menggunakan pelarut konvensional berdasarkan data LC-MS/MS?
4. Apakah terdapat perbedaan signifikan dalam tingkat toksisitas ekstrak stroberi menggunakan NADES dibandingkan dengan ekstrak stroberi menggunakan pelarut konvensional?
5. Sejauh mana penggunaan NADES sebagai pelarut alternatif dapat meningkatkan efisiensi ekstraksi senyawa aktif, memberikan perbedaan spektrum kimia yang signifikan, dan menurunkan potensi toksisitas?

### **1.3 Tujuan Penelitian**

1. Menganalisis dan membandingkan spektrum gugus fungsi senyawa ekstrak stroberi menggunakan NADES dan ekstrak stroberi menggunakan pelarut konvensional dengan analisis spektrum FTIR.
2. Menerapkan analisis kemometrik PCA pada data FTIR untuk mengidentifikasi perbedaan profil kimia ekstrak stroberi berdasarkan jenis pelarut yang digunakan.
3. Melakukan identifikasi dan kuantifikasi senyawa antosianin dari ekstrak stroberi menggunakan LC-MS/MS, serta membandingkan pengaruh jenis pelarut terhadap kandungan senyawa tersebut.
4. Menguji dan menganalisis tingkat toksisitas dari ekstrak stroberi menggunakan NADES dan ekstrak stroberi menggunakan pelarut konvensional.
5. Menilai potensi NADES sebagai pelarut alternatif dalam ekstraksi bahan alam dari segi kualitas senyawa yang dihasilkan, keamanan toksikologis, dan pemisahan kimia yang ditunjukkan melalui PCA-FTIR.

### 1.4 Manfaat Penelitian

1. Memberikan informasi mengenai keamanan ekstrak stroberi berbasis NADES yang dapat dijadikan dasar dalam pengembangan produk pangan berbasis bahan alami.
2. Menyediakan data ilmiah mengenai toksisitas akut ekstrak stroberi menggunakan pelarut yang berbeda pada mencit yang dapat digunakan untuk keperluan pengembangan produk yang aman dikonsumsi.
3. Memperluas wawasan mengenai penggunaan NADES sebagai pelarut ramah lingkungan dalam ekstraksi senyawa bioaktif dari tumbuhan serta penerapan teknik kemometrik dalam menganalisis profil metabolit yang dihasilkan.

