

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Radikal bebas merupakan senyawa yang sangat reaktif karena memiliki elektron tidak berpasangan pada lapisan terluarnya, sehingga dapat memicu terjadinya reaksi berantai yang berkelanjutan. Senyawa ini terbentuk ketika molekul yang stabil mengalami proses oksidasi hingga berubah menjadi tidak stabil dengan tingkat reaktivitas tinggi (1). Penumpukan radikal bebas dalam tubuh dapat menyebabkan kerusakan sel dan memicu penyakit degeneratif seperti hipertensi, penyakit jantung, stroke, dan kanker. Hal ini menjadi perhatian serius karena menurut WHO, pada tahun 2020 sekitar 73% kematian di dunia disebabkan oleh penyakit degeneratif (2). Tubuh manusia sebenarnya memiliki sistem pertahanan alami terhadap radikal bebas yang terbentuk melalui proses metabolisme sel normal dan respons peradangan. Namun, paparan stres, radiasi, asap rokok, serta polusi dapat meningkatkan jumlah radikal bebas hingga melampaui kapasitas pertahanan tubuh, sehingga diperlukan asupan antioksidan dari luar (3). Saat ini, antioksidan sintesis seperti BHA, BHT, dan TBHQ telah banyak digunakan, namun pemakaian jangka panjang memiliki potensi toksisitas tinggi, termasuk hepatotoksitas, nefrotoksitas, serta gangguan endokrin dan embriotoksitas (4). Oleh karena itu, pengembangan dan pemanfaatan sumber antioksidan alami yang lebih aman sangat diperlukan, salah satunya dari tumbuhan famili Piperaceae, yang kaya akan senyawa metabolit sekunder seperti fenolik dan flavonoid yang berpotensi sebagai antioksidan alami.

Piperaceae banyak ditemukan di wilayah tropis dan subtropis, dan dikenal sebagai sumber rempah sekaligus bahan obat tradisional. Tumbuhan ini kaya akan metabolit sekunder, seperti alkaloid, flavonoid, fenolik, triterpen, dan steroid, serta memiliki potensi biologis seperti antimikroba, antijamur, antiinflamasi, dan aktivitas antioksidan (5). Salah satu spesies yang paling umum ditemui adalah sirih hijau (*Piper betle* L.). Berdasarkan uji pendahuluan, ekstrak metanol destilat daun sirih hijau menunjukkan aktivitas antioksidan tertinggi dibandingkan enam jenis sirih lainnya, dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 56,681  $\mu\text{g/mL}$ , serta mengandung fenolik total 53,7035 mgGAE/g dan flavonoid total 33.625 mgQE/g. Beberapa penelitian

sebelumnya melaporkan bahwa sirih hijau (*Piper betle* L.) menunjukkan aktivitas antioksidan yang signifikan dengan nilai  $IC_{50}$  16,33  $\mu\text{g/mL}$  (Ningrum, dkk., 2024), 17,4  $\mu\text{g/mL}$  (Alam, dkk., 2013), dan 78,12  $\mu\text{g/mL}$  (Ali, dkk., 2017) (5–7). Daun sirih hijau (*Piper betle* L.) kaya akan senyawa bioaktif, termasuk fenol, flavonoid, kavikol, hidroksi kavikol, eugenol, kavibetol, karvakrol, dan safrol (8). Senyawa tersebut tersebar luas pada tumbuhan dan dikenal memiliki berbagai aktivitas biologis, khususnya sebagai antioksidan, sehingga kandungan senyawa bioaktif ini menentukan karakteristik aktivitas biologis tanaman (9).

Metode dan jenis pelarut ekstraksi memiliki peran penting dalam ekstraksi metabolit karena kandungan berbagai senyawa dalam tumbuhan memiliki karakteristik kimia dan polaritas yang berbeda. Pelarut polar seperti air, metanol, dan campuran air dan metanol banyak digunakan untuk mengekstrak senyawa fenolik seperti flavonoid. Pelarut air dan metanol telah dilaporkan efektif dalam mengekstrak metabolit tanaman dengan aktivitas biologis yang kuat (9). Oleh karena itu, pada penelitian ini menggunakan variasi pelarut metanol, air, dan campurannya untuk melihat pengaruh pelarut terhadap aktivitas antioksidan, sekaligus memprediksi gugus fungsi yang berkontribusi pada aktivitas antioksidan daun sirih hijau (*Piper betle* L.) melalui analisis spektrum FTIR.

Spektroskopi FTIR didasarkan pada prinsip bahwa senyawa organik dapat menyerap radiasi inframerah pada frekuensi tertentu, sehingga menyebabkan vibrasi pada ikatan molekulnya. Penyerapan ini direkam dan ditampilkan dalam bentuk spektra FTIR, berupa grafik yang menunjukkan variasi transmitansi pada setiap frekuensi (10). Metode spektroskopi FTIR ini dipilih karena relatif murah, cepat, mudah, dan dapat diulang, sehingga cocok digunakan untuk mengklasifikasikan sampel berdasarkan sifat biologisnya (9). Selain itu, spektroskopi FTIR tidak hanya digunakan untuk mengidentifikasi gugus fungsi tertentu, tetapi juga dapat membedakan profil senyawa metabolit melalui analisis pada daerah *fingerprinting* ( $1500\text{-}650\text{ cm}^{-1}$ ), di mana seluruh jenis vibrasi ikatan molekul akan diserap pada daerah ini sehingga pola spektrum yang dihasilkan sangat khas dan mampu membedakan antar sampel meskipun memiliki kandungan senyawa yang sama (11). Namun, spektrum FTIR menghasilkan data yang

kompleks dan sulit diinterpretasikan, sehingga diperlukan pendekatan kemometrika untuk memproses dan menganalisis data tersebut secara lebih efektif (9).

Kemometrika merupakan ilmu pengetahuan yang menghubungkan pengukuran dalam suatu proses atau sistem kimiawi dengan penerapan matematika dan statistika. Kemometrika banyak digunakan pada pengukuran data multivariat yaitu data yang dihasilkan dari pengukuran banyak variabel pada satu sampel yang sama. Dengan kemometrika, data kompleks yang dihasilkan oleh instrumen dapat diolah untuk mengidentifikasi pola dan mengelompokkan sampel berdasarkan karakteristiknya (12). Dua teknik analisis kemometrika yang umum digunakan adalah *Principal Component Analysis* (PCA) dan *Partial Least Square* (PLS). PCA dapat digunakan berdasarkan spektra FTIR untuk mengklasifikasikan sampel berdasarkan perbedaan ekstraksi pelarutnya, sedangkan PLS digunakan untuk menentukan korelasi antara gugus fungsi dalam spektra FTIR dengan nilai IC<sub>50</sub> dari ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) (9).

Beberapa penelitian sebelumnya telah memanfaatkan kombinasi spektrofotometri FTIR dan kemometrika untuk mempelajari perubahan profil metabolit serta hubungannya dengan bioaktivitas pada berbagai tumbuhan. Seperti mengidentifikasi gugus fungsi yang berkorelasi dengan aktivitas antioksidan maupun penghambatan  $\alpha$ -glukosidase pada ekstrak dan fraksi *Phaleria macrocarpa*, *Momordica charantia*, *Smalanthus sonchifolius*, dan *Syzygium polyanthum* (9). Namun, hingga saat ini belum ada penelitian yang melaporkan klasifikasi ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) berdasarkan variasi pelarutnya menggunakan FTIR dan korelasinya dengan aktivitas antioksidannya. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk menentukan pelarut yang paling efektif dalam mengekstrak senyawa metabolit sekunder dan memberikan aktivitas antioksidan yang terbaik, serta memprediksi gugus fungsi yang berperan dalam aktivitas antioksidan ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dengan beberapa konsentrasi pelarut metanol dan air.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah disampaikan, dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut:

1. Ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dari konsentrasi pelarut metanol dan air manakah yang memberikan aktivitas antioksidan paling tinggi?
2. Apakah ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dapat diklasifikasikan berdasarkan konsentrasi pelarut metanol dan air, serta dapat diprediksi gugus fungsi yang berkontribusi signifikan terhadap aktivitas antioksidan menggunakan kombinasi spektroskopi FTIR dan kemometrik?

### 1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah diatas, maka tujuan penelitian ini yaitu:

1. Menentukan ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dari konsentrasi pelarut metanol dan air yang dapat memberikan aktivitas antioksidan paling tinggi.
2. Mengklasifikasikan ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) berdasarkan konsentrasi pelarut metanol dan air, serta memprediksi gugus fungsi yang memberikan kontribusi signifikan terhadap aktivitas antioksidan menggunakan kombinasi spektroskopi FTIR dan kemometrik.

### 1.4 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan latar belakang dan rumusan masalah, hipotesis penelitian ini yaitu:

1. Pelarut dengan konsentrasi metanol 70% akan menghasilkan ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dengan aktivitas antioksidan paling tinggi dibandingkan pelarut air dan konsentrasi metanol lainnya.
2. Ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dapat diklasifikasikan berdasarkan beberapa konsentrasi pelarut dari metanol dan air, serta dapat diprediksi gugus fungsi yang memberikan kontribusi signifikan terhadap aktivitas antioksidan dengan menggunakan kombinasi spektroskopi FTIR dan kemometrik.