

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Radikal bebas merupakan molekul atau atom yang memiliki elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya. Elektron tunggal menyebabkan senyawa radikal menjadi tidak stabil dan sangat reaktif. Radikal bebas memiliki peran ganda dalam fisiologi dan patologi manusia. Dalam fungsi seluler, radikal bebas berperan dalam jalur pensinyalan sel yang mengatur tonus vaskular, respon imun dan apoptosis¹. Sel imun memproduksi radikal bebas dalam *Reactive Oxygen Species* (ROS) untuk menghancurkan patogen. Namun, ketidakseimbangan antara produksi radikal bebas dan kemampuan tubuh untuk detoksifikasi sisa radikal bebas, menyebabkan terjadinya stres oksidatif. Stres oksidatif terjadi ketika radikal bebas bereaksi dengan komponen seluler penting seperti lipid, protein dan DNA. Hal ini menyebabkan hilangnya fungsi dan integritas struktural sel, kerusakan DNA, mutasi dan ketidakstabilan genom². Mengurangi efek merugikan radikal bebas, organisme mengembangkan mekanisme antioksidan dalam bentuk enzim seperti superoksida dismutase (SOD) dan katalase yang menetralkan ROS, serta antioksidan non-enzimatik seperti vitamin C, vitamin E dan glutathione yang dapat menangkap radikal bebas³.

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat mencegah dan menunda terjadinya oksidasi yang dapat menghasilkan radikal bebas. Antioksidan bereaksi dengan radikal bebas untuk mencegah kerusakan biomolekul. Semakin banyak radikal bebas, kebutuhan akan antioksidan juga meningkat. Paparan radikal bebas dapat meningkat akibat polusi, asap rokok, obat-obatan, penyakit, stres dan olahraga⁴. Kondisi kerusakan oksidatif yang terus meningkat memungkinkan antioksidan endogen belum mencukupi, sehingga diperlukan nutrisi antioksidan untuk memulihkan keseimbangan redoks³.

Antioksidan eksogen dapat berasal dari bahan alami yang bersumber dari buah-buahan, sayuran, biji-bijian dan lainnya dalam bentuk vitamin, flavonoid dan antosianin serta bahan sintesis seperti butil oksianisol, butil hidroksitoluen dan lainnya⁵. Antioksidan dari bahan alam banyak diminati karena dinilai lebih aman dan memiliki efek samping yang lebih rendah dibandingkan antioksidan sintesis. Selain itu, senyawa bioaktif seperti fenolik dan flavonoid yang terkandung dalam tanaman terbukti memiliki aktivitas antioksidan dan berperan penting dalam menangkal radikal bebas⁶. Hal ini mendorong banyaknya peneliti mengeksplorasi berbagai sumber tanaman sebagai alternatif antioksidan alami⁷.

Kakao (*Theobroma cacao* L.) merupakan salah satu tanaman yang berpotensi sebagai sumber antioksidan. Umumnya pemanfaatan terhadap tanaman kakao berfokus pada bijinya. Bagian lain dari tanaman kakao seperti daun, kulit biji dan kulit buah masih minim dalam pemanfaatannya dan seringkali menjadi limbah pertanian. Dalam beberapa penelitian melaporkan bahwasanya daun kakao mengandung metabolit sekunder seperti fenolik, flavonoid dan tanin yang dapat berperan sebagai antioksidan^{8,9,10}. Studi yang dilakukan oleh Nadyatul et al. (2024) membuktikan bahwa ekstrak etanol daun kakao mengandung metabolit sekunder dari kelompok alkaloid, fenolik dan gliserol secara kuantitatif melalui analisis GC-MS. Dimana sebagian senyawa yang teridentifikasi memiliki potensi efek farmakologis¹¹. Haiyul et al. (2024) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kakao memiliki kandungan fenolik yang cukup tinggi, serta memiliki aktivitas antioksidan berdasarkan pengujian dengan metode DPPH (*1,1-difenil-2-picrilhidrazil*) sebesar 35,647 µg/mL¹².

Ekstraksi merupakan tahapan yang dilakukan untuk memperoleh senyawa bioaktif dari bahan alam. Pemilihan metode ekstraksi sangat berpengaruh terhadap jumlah dan kualitas dari senyawa bioaktif yang diperoleh. Metode ekstraksi terdiri dari metode konvensional seperti maserasi dan dekoksi hingga metode modern seperti *microwave-assisted extraction* (MAE) dan *ultrasound-assisted extraction* (UAE)¹³. Penelitian terdahulu menggunakan metode maserasi dengan variasi jenis pelarut. Hasil menunjukkan pelarut metanol menghasilkan kandungan fenolik total tertinggi dibandingkan pelarut etil asetat dan aseton. Kandungan fenolik diperoleh sebesar $349,952 \pm 0,051$ mg GAE/g sampel⁸. Penelitian lain dengan metode yang sama dengan pelarut etanol memperoleh kandungan fenolik total daun kakao sebesar $69,608 \pm 1,699$ mg GAE/g¹².

Sebagian besar ekstraksi menggunakan pelarut organik seperti metanol dan etanol. Namun, penggunaan pelarut organik memiliki beberapa keterbatasan yaitu potensi toksisitas, biaya lebih tinggi dan kurang ramah lingkungan. Metode dekoksi merupakan teknik ekstraksi yang menggunakan pelarut air dengan adanya bantuan panas. Dekoksi menjadi metode konvensional yang sering digunakan dalam penelitian dan juga pembuatan obat tradisional karena menggunakan pelarut yang aman, sederhana, ekonomis dan mudah diaplikasikan tanpa perlu perlakuan khusus. Dekoksi biasa digunakan untuk ekstraksi senyawa aktif pada bunga, daun dan batang¹⁴.

Faktor operasional seperti jenis pelarut, suhu, waktu ekstraksi dan rasio pelarut terhadap bahan juga mempengaruhi efektifitas ekstraksi. Perubahan salah satu parameter dapat merubah hasil yang diperoleh. Pada metode dekoksi, suhu dan waktu ekstraksi sangat berpengaruh terhadap difusi senyawa bioaktif ke dalam pelarut. Penggunaan suhu dan waktu yang tidak tepat dapat menyebabkan kerusakan senyawa bioaktif dalam bahan alam. Oleh karena itu, diperlukan optimasi parameter operasional untuk mendapatkan kondisi operasional yang optimal¹⁵.

Response Surface Methodology (RSM) merupakan salah satu pendekatan yang dapat digunakan untuk optimasi suatu proses. RSM mampu menghasilkan metode matematis yang menggambarkan hubungan antara variabel proses dan respon yang dihasilkan secara efisien. Penelitian terbaru melakukan optimasi proses UAE menggunakan pendekatan RSM mampu meningkatkan perolehan senyawa fenolik dan antioksidan secara signifikan¹⁶. Hasil menunjukkan model kuadratik RSM menentukan kondisi ekstraksi optimum pada persentase etanol 89,34%, waktu iradiasi ultrasonik 45,87 menit dan rasio pelarut terhadap sampel 5 – 15 mL/g, dengan nilai prediksi kandungan fenolik total (TPC) dan aktivitas antioksidan masing-masing sebesar 129,67 mg GAE/g ekstrak dan 44,52%. Validasi eksperimen menghasilkan TPC sebesar $118,84 \pm 0,83$ mg GAE/g dan aktivitas antioksidan sebesar $42,01 \pm 1,14\%$, sesuai dengan prediksi dalam margin kesalahan 5%¹⁶. Hal ini menunjukkan bahwasanya RSM efektif dalam memprediksi kondisi optimum suatu ekstraksi.

Penelitian ini menerapkan RSM dalam menentukan kondisi optimum ekstraksi daun kakao menggunakan metode dekoksi dengan pelarut air untuk memperoleh kapasitas antioksidan dan kandungan fenolik total yang maksimal.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dikemukakan, rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu:

1. Bagaimana kondisi optimum ekstraksi senyawa berdasarkan kapasitas antioksidan dan fenolik total dengan parameter suhu, waktu dan rasio sampel terhadap pelarut dari daun kakao dengan metode metode RSM?
2. Berapakah kapasitas antioksidan dan fenolik total dari kondisi optimum ekstraksi yang didapatkan dari metode RSM?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah, maka dilakukan penelitian ini dengan tujuan:

1. Menentukan kondisi optimum ekstraksi senyawa berdasarkan kapasitas antioksidan dan fenolik total dengan parameter suhu, waktu, dan rasio sampel terhadap pelarut dari daun kakao menggunakan metode RSM.
2. Menentukan kapasitas antioksidan dan fenolik total yang didapatkan dari kondisi optimum ekstraksi menggunakan metode RSM.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi terkait kondisi optimum ekstraksi senyawa antioksidan dan fenolik total menggunakan metode RSM dari daun kakao sehingga didapatkan kapasitas antioksidan dan fenolik total yang maksimum.

