

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Radikal bebas merupakan molekul tidak stabil yang dapat merusak sel, protein, dan DNA dalam tubuh, serta berkontribusi pada berbagai penyakit degeneratif. Radikal bebas dapat berasal dari luar tubuh (eksogen), seperti paparan sinar ultraviolet, polusi udara, asap rokok dan zat kimia berbahaya, atau dari dalam tubuh (endogen), seperti selama aktivitas metabolisme normal. Dalam keadaan normal, tubuh menggunakan antioksidan endogen termasuk *glutathione*, katalase, dan superoksida dismutase (SOD) sebagai bagian dari mekanisme pertahanan alami terhadap radikal bebas. Namun, stress oksidatif akan terjadi jika tubuh memproduksi radikal bebas melebihi kapasitas sistem pertahanan tubuh, yang dapat menyebabkan sejumlah masalah kesehatan. Menurut data WHO (*World Health Organization*), penyakit tidak menular yang sering dikaitkan dengan stress oksidatif, bertanggung jawab atas hampir 74% dari semua kematian diseluruh dunia pada tahun 2022. Penyakit kardiovaskular dan kanker menduduki peringkat teratas di dunia sebagai penyebab kematian pada masyarakat. Fenomena ini menunjukkan pentingnya upaya pencegahan untuk menurunkan risiko berbagai penyakit, salah satunya dengan mengonsumsi lebih banyak antioksidan, yang melindungi tubuh dari efek merusak radikal bebas¹.

Antioksidan adalah senyawa kimia yang dapat menyumbangkan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas, sehingga reaksi radikal bebas tersebut dapat terhambat dan mencegah terbentuknya radikal bebas baru. Antioksidan berdasarkan sumbernya dibedakan menjadi dua, yaitu antioksidan alami dan sintetis. Namun penggunaan antioksidan sintetis dibatasi oleh aturan pemerintah karena penggunaan dalam jumlah berlebih dapat mengakibatkan racun dalam tubuh sehingga dibutuhkan antioksidan alternatif yang aman untuk digunakan. Tumbuhan merupakan salah satu potensi antioksidan alami. Aktivitas antioksidan tidak hanya didominasi oleh senyawa fenolik, adapun senyawa antioksidan non-fenolik, seperti vitamin C, vitamin E, dan β -karoten, atau senyawa metabolit sekunder lainnya dengan kemampuan penangkapan radikal bebas tinggi yang memberikan kontribusi yang sangat penting².

Di Indonesia, kekayaan sumber daya alam yang melimpah menjadikan tanaman obat sebagai salah satu sumber potensial senyawa bioaktif, seperti flavonoid, fenolik, dan alkaloid yang bermanfaat sebagai antioksidan, antibakteri, dan antikanker. Beberapa peneliti terdahulu juga mengidikasikan bahwa fenolik dan flavonoid adalah komponen utama yang berkontribusi pada aktivitas antioksidan alami, karena kemampuannya untuk mendonorkan atom hidrogen sehingga terbentuk radikal yang stabil. Salah satu tanaman lokal yang menjanjikan sebagai sumber antioksidan alami adalah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). Tanaman ini secara tradisional digunakan untuk mengobati batuk, menurunkan kolesterol, serta mengatasi hipertensi, *stroke*, asam urat, rematik, diabetes melitus, jerawat, dan sariawan. Selain itu, daunnya diketahui mengandung berbagai senyawa bioaktif seperti flavonoid, tanin, alkaloid, kumarin, dan fenolik yang memiliki peran dalam menangkal radikal bebas³.

Pemilihan metode ekstraksi yang tepat dilakukan untuk mengoptimalkan pengambilan senyawa-senyawa dari tumbuhan dan menghindari *thermal degradation* dari senyawa fenolik. *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) merupakan teknik ekstraksi ramah lingkungan dengan prinsip kavitasi akustik untuk membuat gelembung spontan dalam fase cair yang berada di bawah titik didih. Pada penelitian yang dilakukan Mousavi et al. (2022) diperoleh hasil bahwa ekstraksi dengan metode UAE menghasilkan kandungan fenolik total sebesar 788,43 mg/100 g dan aktivitas antioksidannya 86,06%, sedangkan maserasi hanya menghasilkan kandungan fenolik total sebesar 747,25 mg/100 g dan aktivitas antioksidannya 76,57%. Selain itu, metode UAE hanya memerlukan waktu ekstraksi 5 menit, sedangkan maserasi membutuhkan waktu ekstraksi 2 jam⁴. Adapun hasil penelitian lain yang dilaporkan oleh Tran et al. (2021) pada ekstraksi pektin dari ampas buah Gac (*Momordica cochinchinensis*) yang menunjukkan bahwa ekstraksi dengan metode UAE hanya membutuhkan waktu singkat, yaitu 35 menit, sedangkan pada metode *Acidic Hot Water Extraction* (AHWE) memerlukan waktu yang lama, yaitu 100 menit⁵. Kedua penelitian menunjukkan bahwa UAE dinilai sebagai metode yang efektif, efisien, dan mampu menghasilkan ekstrak dengan kualitas yang baik dibandingkan metode konvensional. Namun, metode ini juga terdapat kelemahan, salah satunya adalah paparan gelombang ultrasonik yang berlebihan dapat menyebabkan pembentukan radikal bebas akibat fenomena kavitasi dan berpotensi memodifikasi senyawa target yang sedang diekstraksi, sehingga dapat menurunkan stabilitas dan kualitas ekstrak yang dihasilkan. Oleh karena itu, untuk mencegah masalah ini, parameter ekstraksi dengan metode UAE perlu dioptimalkan⁶.

Optimisasi merupakan langkah yang sering dilakukan untuk menemukan pilihan terbaik. Beragam metode optimisasi diterapkan saat ini, salah satu pendekatan yang berhasil dalam meningkatkan efisiensi proses ekstraksi adalah *Response Surface Methodology* (RSM). RSM adalah kumpulan metode statistik dan matematis yang bertujuan untuk merancang serangkaian eksperimen agar sejalan dengan model empiris dan untuk menemukan kondisi yang paling optimal pada variabel independen sehingga memberikan hasil respon yang maksimum⁷. Sebelum penerapan metode RSM, umumnya dilakukan tahap pendahuluan menggunakan metode *One Factor At a Time* (OFAT) yaitu dengan memvariasikan satu faktor sementara faktor lainnya dijaga tetap konstan. Pendekatan ini memerlukan jumlah percobaan yang relatif banyak untuk memperoleh informasi yang memadai terkait kondisi optimum. Selain membutuhkan waktu, biaya, dan tenaga yang besar, metode OFAT juga memiliki keterbatasan karena tidak mampu mengevaluasi adanya interaksi antar variabel. Meskipun memiliki keterbatasan, metode ini tetap memberikan informasi yang berguna, seperti dalam penentuan nilai tengah variabel yang selanjutnya digunakan pada metode RSM⁸.

Hosni et al. (2023) telah melakukan optimasi ekstraksi antioksidan dari *Melastoma malabathricum* dengan bantuan ultrasonik dengan tujuan mengevaluasi sifat fitokimianya. Pada penelitian tersebut dijelaskan bahwa OFAT dan RSM memiliki fungsi yang berbeda tetapi saling melengkapi. Metode OFAT berperan sebagai tahap penyaringan untuk menyeleksi

variabel independen dan menentukan rentang percobaan. Selanjutnya dilakukan optimasi lanjutan menggunakan RSM dengan desain *Box Behnken Design* (BBD) untuk menemukan kondisi ekstraksi terbaik dengan mengevaluasi pengaruh masing-masing variabel dan interaksi antarvariabel terhadap respon, sehingga diperoleh nilai kapasitas antioksidan tertinggi. Desain BBD ini memberikan efisiensi dalam jumlah eksperimen yang dilakukan, serta mempertahankan akurasi yang sebanding dengan metode desain lain. Hasil optimasi menggunakan pendekatan OFAT menunjukkan bahwa kondisi optimum tercapai pada suhu ekstraksi 50 °C, waktu 35 menit, konsentrasi etanol 45% dan rasio sampel terhadap pelarut 1:30 g/mL. Sedangkan hasil optimasi menggunakan pendekatan RSM-BBD menunjukkan bahwa kondisi optimum diperoleh pada suhu ekstraksi 32 °C, waktu 16 menit, konsentrasi etanol 70% dan rasio sampel terhadap pelarut 1:10 g/mL yang menghasilkan kapasitas antioksidan sebesar 96%, kandungan fenolik total sebesar 803,456 mg GAE/g, kandungan flavonoid total sebesar 102,972 mg QE/ g. Hasil tersebut menunjukkan bahwa penelitian dengan kombinasi OFAT dan RSM adalah pendekatan yang efektif dalam menentukan kondisi ekstraksi optimum untuk memperoleh senyawa bioaktif dengan kapasitas antioksidan tertinggi⁹.

Keberhasilan proses optimasi ekstraksi umumnya ditentukan berdasarkan respon yang mencerminkan kualitas suatu ekstrak, diantaranya kapasitas antioksidan total dan kandungan fenolik total. Kapasitas antioksidan yang terdapat dalam ekstrak daun belimbing wuluh dapat ditentukan menggunakan metode DPPH. Metode DPPH digunakan karena prosedur yang sederhana, cepat, akurat, sensitivitas tinggi, serta tidak memerlukan preparasi yang rumit. Selain itu, DPPH merupakan radikal bebas yang stabil akibat delokalisasi elektron tidak berpasangan pada sistem π terkonjugasi, sehingga reaktivitas radikal dapat menurun dan mencegah dimerisasi¹⁰. Sedangkan kandungan fenolik total ditentukan dengan metode Folin-Ciocalteu. Metode ini telah banyak digunakan untuk menentukan kandungan fenolik total karena prosedurnya sederhana, memiliki reproduksibilitas yang baik serta didasarkan pada reaksi transfer elektron antara senyawa fenolik dengan reagen Folin-Ciocalteu sehingga menghasilkan perubahan warna yang dapat diukur secara spektrofotometri¹¹.

Swara et al. (2023) telah melakukan penelitian mengenai pengaruh waktu ekstraksi dengan metode *Microwave Assisted Extraction* (MAE) terhadap aktivitas antioksidan ekstrak daun belimbing wuluh menunjukkan bahwa metode DPPH dan Folin-Ciocalteu digunakan untuk menilai kapasitas antioksidan dan kandungan fenolik total dari ekstrak daun belimbing wuluh. Pada penelitian tersebut diperoleh bahwa waktu ekstraksi yang lebih lama menyebabkan penurunan akibat degradasi senyawa karena panas berlebih. Waktu ekstraksi terbaik diperoleh pada 5 menit, dengan rendemen sebesar 26,75%, kandungan fenolik total 621,60 mg GAE/g, TFC 321,52 mg QE/g, total tanin 298,83 mg TAE/g, total vitamin C 595,44 mg AAE/g, serta nilai IC_{50} sebesar 28,35 ppm yang tergolong sebagai antioksidan sangat kuat¹².

Pada penelitian ini digunakan pendekatan RSM dengan desain BBD untuk mengoptimalkan proses ekstraksi senyawa antioksidan dari daun belimbing wuluh dengan bantuan metode UAE. Variabel independen yang dikaji meliputi suhu ekstraksi, waktu ekstraksi, serta rasio pelarut terhadap bahan padat. Melalui pendekatan RSM, diharapkan dapat diperoleh kondisi ekstraksi optimum yang mampu menghasilkan ekstrak dengan kapasitas antioksidan total dan kandungan fenolik total yang maksimal. Hasil penelitian ini diharapkan dapat berkontribusi terhadap pengembangan metode ekstraksi yang lebih efisien dan ramah lingkungan, serta mendukung pemanfaatan daun belimbing wuluh sebagai sumber antioksidan alami di bidang pangan dan farmasi.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, permasalahan yang dikaji dalam penelitian ini dapat dirumuskan sebagai berikut:

1. Berapa kondisi optimum ekstraksi daun belimbing wuluh menggunakan metode UAE berdasarkan variasi suhu, waktu, dan rasio sampel terhadap pelarut dengan metode OFAT?
2. Berapa kondisi optimum ekstraksi daun belimbing wuluh menggunakan metode UAE berdasarkan variasi suhu, waktu, dan rasio sampel terhadap pelarut dengan pendekatan RSM, serta berapa nilai maksimum kapasitas antioksidan total dan kandungan fenolik total yang diperoleh pada kondisi optimum tersebut?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan yang ingin dicapai dalam penelitian ini meliputi:

1. Menentukan kondisi optimum ekstraksi daun belimbing wuluh menggunakan metode UAE berdasarkan variasi suhu, waktu, dan rasio sampel terhadap pelarut dengan metode OFAT.
2. Menentukan kondisi optimum ekstraksi daun belimbing wuluh menggunakan metode UAE berdasarkan variasi suhu, waktu, dan rasio sampel terhadap pelarut dengan pendekatan RSM, serta menentukan nilai maksimum kapasitas antioksidan total dan kandungan fenolik total yang diperoleh pada kondisi optimum tersebut.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan memberikan manfaat secara ilmiah dan praktis. Secara ilmiah, penelitian ini mampu menambah referensi mengenai pengaruh parameter ekstraksi, meliputi suhu, waktu, dan rasio sampel terhadap pelarut, melalui penerapan metode UAE dengan metode OFAT dan pendekatan RSM berbasis BBD untuk memperoleh kondisi optimum ekstraksi yang menghasilkan kapasitas antioksidan total dan kandungan fenolik total maksimum. Secara praktis, hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar pengembangan metode ekstraksi yang lebih efisien, ramah lingkungan, serta mendukung pemanfaatan daun belimbing wuluh sebagai sumber antioksidan alami yang berpotensi diaplikasikan dalam bidang farmasi dan pangan fungsional.