

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Radikal bebas merupakan atom yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan sehingga senyawa ini bersifat sangat reaktif (Fessenden dan Fessenden, 1986). Senyawa ini dapat ditimbulkan oleh polusi akibat asap kendaraan bermotor, asap rokok dan pola gaya hidup yang tidak sehat. Senyawa radikal ini dapat menyebabkan kanker, jantung, katarak (Andayani *et al.*, 2008), aterosklerosis dan penuaan yang disebabkan oleh kerusakan jaringan karena oksidasi (Kikuzaki *et al.*, 2002). Senyawa radikal penyebab penyakit tersebut dapat dicegah oleh adanya senyawa antioksidan.

Antioksidan merupakan senyawa yang menghambat proses oksidasi. Senyawa ini menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron dari radikal bebas sehingga menghambat terjadinya reaksi berantai (Windono *et al.*, 2001). Sumber antioksidan dapat berasal dari alam maupun sintesis. Antioksidan sintesis kurang disukai karena efek samping yang menyertainya. Antioksidan sintesis seperti BHT (*Butylated Hydroxy Toluene*) dan BHA (*Butylated Hydroxy Aniline*) diketahui memiliki efek samping yang besar seperti kerusakan hati (Hertiani *et al.*, 2001), karsinogen terhadap efek reproduksi dan metabolisme serta tidak terjamin keamanannya dalam penggunaan jangka lama (Hernani dan Rahardjo, 2006). Flavonoid, vitamin C, beta karoten dan senyawa lain yang berasal dari alam merupakan sumber antioksidan yang efektif dan relatif

aman sehingga eksplorasi bahan alam sebagai sumber antioksidan semakin banyak dilakukan (Kikuzaki dan Nakatani, 1993).

Tanaman rambutan merupakan salah satu tanaman asli Indonesia yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai antioksidan alami. Rambutan merupakan sumber vitamin C yang baik (Mangku *et al.*, 2006). Tidak hanya buahnya, kulit buah rambutan juga mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E.coli* dan *S.aureus* (Yudaningtyas, 2009). Penelitian Anshory (2006) menyebutkan bahwa ekstrak etanol kulit buah rambutan memiliki kemampuan meredam radikal bebas DPPH lebih besar dibandingkan vitamin E. Penelitian Thitilerdecha *et al.*, (2010) menyebutkan bahwa beberapa senyawa fenolik seperti asam ellagat, corilagin dan geraniin yang diisolasi dari ekstrak metanol kulit buah rambutan (*Nephelium lappaceum L.*) merupakan senyawa yang bertanggungjawab terhadap aktivitas antioksidan. Kulit buah rambutan mengandung flavonoid, tanin dan saponin (Dalimartha, 2005) serta antosianin yang diduga sebagai pigmen yang membuat kulitnya berwarna merah tua (Wijaya *et al.*, 2001).

Biji rambutan mengandung polifenol (Dalimartha, 2005) dan beberapa senyawa golongan flavonoid yang telah berhasil diisolasi dari ekstrak etanol biji rambutan yaitu senyawa flavonol tersubstitusi gula pada posisi 7-O dengan gugus hidroksil pada posisi 3, 5, dan 4'; senyawa flavonol tersustitusi pada 3-O dan 7-O dengan gugus hidroksil pada posisi 5 dan 4'; dan senyawa flavonoid tersubstitusi pada 5-O (Asrianti *et al.*, 2006). Berdasarkan penelitian Thitilerdecha *et al.* (2008), senyawa fenolik yang terdapat dalam ekstrak biji rambutan merupakan senyawa yang berperan dalam aktivitas antioksidan dan antibakteri.

Kandungan senyawa fenolik dan flavonoid yang ditemukan pada tanaman dapat beraktivitas sebagai antioksidan (Hernani dan Rahardjo, 2006). Penelitian Maisuthisakul *et al.* (2006) membuktikan bahwa tingginya senyawa fenolik dan flavonoid dari beberapa tanaman menunjukkan aktivitas antioksidan yang kuat. Penelitian Utami *et al.* (2005) juga menunjukkan bahwa semakin tinggi kadar senyawa fenolik dan flavonoid maka aktivitas penangkap radikalnya semakin meningkat.

Manfaat kulit buah serta biji rambutan tersebut belum banyak diketahui dan belum secara maksimal dirasakan manfaatnya oleh masyarakat. Sebagian besar kulit buah dan biji rambutan hanya berakhir sebagai limbah. Penelitian tentang aktivitas penangkap radikal ekstrak etanol, fraksi-fraksi kulit buah dan biji rambutan serta penetapan kadar fenolik dan flavonoid totalnya perlu untuk dilakukan sehingga dapat diketahui kemanfaatan kulit buah dan biji rambutan sebagai sumber antioksidan alami.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang tersebut, maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut:

1. Apakah ekstrak etanol, fraksi-fraksi kulit buah dan biji rambutan (*Nephelium lappaceum L.*) memiliki aktivitas penangkap radikal bebas dengan menggunakan metode DPPH?
2. Berapakah kadar fenolik dan flavonoid total ekstrak etanol, fraksi-fraksi dari kulit buah serta biji rambutan (*Nephelium lappaceum L.*)?

3. Bagaimanakah korelasi antara kadar fenolik dan flavonoid total terhadap aktivitas penangkap radikal ekstrak etanol, fraksi-fraksi dari kulit buah serta biji rambutan (*Nephelium lappaceum L.*)?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mengetahui aktivitas penangkap radikal ekstrak etanol, fraksi-fraksi kulit buah dan biji rambutan (*Nephelium lappaceum L.*) dengan menggunakan metode DPPH.
2. Menetapkan kadar fenolik dan flavonoid total ekstrak etanol, fraksi-fraksi dari kulit buah serta biji rambutan (*Nephelium lappaceum L.*).
3. Mengetahui korelasi antara kadar fenolik dan flavonoid total terhadap aktivitas penangkap radikal ekstrak etanol, fraksi-fraksi dari kulit buah serta biji rambutan (*Nephelium lappaceum L.*).

D. Tinjauan Pustaka

1. Tanaman rambutan

a. Klasifikasi tanaman

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Rosidae
Ordo	: Sapindales

Famili : Sapindaceae
Genus : Nephelium
Spesies : *Nephelium lappaceum*, L.

(Cronquist, 1981)

b. Nama daerah

Rambutan dikenal dengan berbagai macam nama lokal di Indonesia seperti rambutan, rambot, rambut, rambuteun, rambuta, jailan, folui, bairabit, puru biancak, p. Biawak, hahujam, kakapas, likis, takujung alu (Sumatera), rambutan, corogol, tundun, bunglon, buwa, buluwan (Jawa), buluan, rambuta (Nusa Tenggara), rambutan, siban, banamon, beriti, sanggalaong, sagalong, beliti, maliti, kayokan, bengayau, puson (Kalimantan), rambutan, rambuta, rambusa, barangkasa, bolangat, balatu, balatung, walatu, wayatu, wilatu, wulangas, lelamu, lelamun, toleang (Sulawesi), rambutan, rambuta (Maluku) (Dalimartha, 2005).

c. Nama asing

Shao tzu (Cina), ramboutan (Perancis), ramustan (Spanyol) (Dalimartha, 2005).

d. Morfologi tanaman

Rambutan banyak ditanam sebagai pohon buah dan kadang-kadang ditemukan tumbuh liar. Tumbuhan tropis ini memerlukan iklim lembab dengan curah hujan tahunan paling sedikit 2000 mm. Rambutan merupakan tanaman dataran rendah yang ketinggiannya mencapai 300- 600 m dpl. Pohon dengan tinggi 15-25 m ini mempunyai banyak cabang.

Daunnya merupakan daun majemuk menyirip yang letaknya berseling dengan anak daun 2-4 pasang. Helaian anak daun berbentuk bulat lonjong dengan panjang 7,5-20 cm dan lebar 3,5-8,5 cm, ujung dan pangkal daunnya runcing, tepi rata, pertulangan menyirip, tangkai silindris, warnanya hijau dan seringkali mengering. Bunga tersusun pada tandan di ujung ranting, harum, kecil-kecil dan berwarna hijau muda. Bunga jantan dan bunga betina tumbuh terpisah dalam satu pohon. Buah berbentuk bulat lonjong yang mempunyai panjang 4-5 cm dengan duri tempel yang bengkok, lemas sampai kaku. Kulit buahnya berwarna hijau dan menjadi kuning atau merah kalau sudah masak. Dinding buah tebal. Biji berbentuk elips, terbungkus daging buah berwarna putih transparan yang dapat dimakan dan banyak mengandung air, rasanya bervariasi dari masam sampai manis. Kulit biji tipis berkayu.

Rambutan berbunga pada akhir musim kemarau dan membentuk buah pada musim hujan, sekitar November sampai Februari. Terdapat banyak jenis rambutan seperti ropiah, simacan, sinyonya, lebakbulus dan binjei. Berkembangbiak dengan biji, tempelan tunas atau dicangkok (Dalimartha, 2005).



Gambar 1. Buah Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.)

e. Kandungan kimia

Buah rambutan mengandung karbohidrat, protein, kalsium, vitamin C (Dalimartha, 2005), zat besi, fosfor dan lemak (Hariana, 2006). Kulit buahnya mengandung flavonoid, tanin dan saponin (Dalimartha, 2005). Penelitian Thitilerdecha *et al.* (2010) berhasil mengisolasi asam ellagat, corilagin dan geraniin dari ekstrak metanol kulit buah rambutan (*Nephelium lappaceum L.*). Biji rambutan mengandung lemak dan polifenol (Dalimartha, 2005). Penelitian Asrianti *et al.* (2006) menunjukkan biji rambutan memberikan hasil positif terhadap golongan senyawa flavonoid. Daunnya mengandung tanin dan saponin. Kulit batang mengandung tanin, saponin, flavonoida, *pectic substances* dan zat besi (Dalimartha, 2005).

f. Khasiat

Manfaat kulit buah rambutan adalah sebagai obat demam (Anonim, 2010), antioksidan (Anshory (2006); Thitilerdecha *et al.* (2010)) dan antibakteri terhadap bakteri *E.coli* dan *S.aureus* (Yudaningtyas, 2009). Biji buah rambutan berkhasiat sebagai hipoglikemik (menurunkan kadar gula darah) (Dalimartha, 2005). Senyawa fenolik dalam ekstrak biji buah rambutan beraktivitas sebagai antioksidan dan antibakteri (Thitilerdecha *et al.*, 2008).

2. Radikal bebas

Radikal bebas merupakan atom atau gugus atom apa saja yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan sehingga bersifat sangat reaktif (Fessenden dan Fessenden, 1986). Beberapa contoh radikal bebas antara lain:

anion superoksida ($2O_2 \bullet^-$), radikal hidroksil ($OH\bullet$), nitril oksida ($NO\bullet$), hidrogen peroksida (H_2O_2) dan sebagainya (Larson, 1997 *cit* Windono *et al.*, 2001).

Radikal bebas dapat berasal dari dalam tubuh (endogen) maupun dari luar tubuh (eksogen). Radikal yang berasal dari dalam tubuh (endogen) terbentuk sebagai sisa proses metabolisme (proses pembakaran) protein, karbohidrat dan lemak pada mitokondria, proses inflamasi atau peradangan, reaksi antara besi logam transisi dalam tubuh, fagosit, xantin oksidase, peroksisom maupun pada kondisi iskemia (reperfusi). Sumber dari luar tubuh (eksogen) adalah asap rokok, asap kendaraan bermotor, polusi lingkungan, obat-obatan atau bahan-bahan kimia, pestisida, limbah industri, makanan yang terlalu hangus, radiasi sinar ultraviolet dan lain sebagainya (Langseth, 1995).

Radikal bebas dapat bereaksi dengan suatu senyawa melalui mekanisme reaksi. Mekanisme reaksi radikal bebas adalah suatu deret reaksi bertahap. Tahapan reaksi radikal bebas tersebut dibagi menjadi tiga tahap yaitu permulaan (inisiasi), perambatan (propagasi) dan pengakhiran (terminasi) reaksi radikal bebas. Tahap permulaan (inisiasi) adalah tahap pembentukan awal radikal-radikal bebas. Tahap perambatan (propagasi) merupakan tahapan dimana radikal bebas mengawali sederetan reaksi sampai terbentuk radikal bebas baru yang sering disebut sebagai reaksi rantai. Tahap pengakhiran (terminasi) adalah tahap terputusnya daur propagasi oleh reaksi-reaksi pengakhiran (terminasi). Reaksi ini mengubah radikal bebas menjadi radikal bebas yang stabil dan tidak reaktif (Fessenden dan Fessenden, 1986).

3. Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang dalam kadar rendah mampu menghambat proses oksidasi. Senyawa antioksidan ini berfungsi untuk menstabilkan radikal bebas dengan melengkapinya kekurangan elektron dari radikal bebas sehingga menghambat terjadinya reaksi berantai (Windono *et al.*, 2001). Secara umum, antioksidan mengurangi kecepatan reaksi inisiasi pada reaksi berantai pembentukan radikal bebas dalam konsentrasi yang sangat kecil yaitu 0,01% atau bahkan kurang (Madhavi *et al.*, 1995).

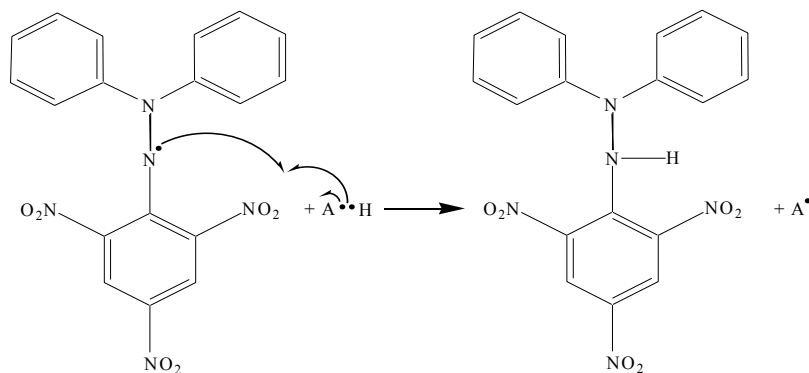
Berdasarkan mekanisme kerjanya, antioksidan dapat dikelompokkan menjadi tiga kelompok, yaitu:

- a. Antioksidan primer, yaitu antioksidan yang dapat menghalangi pembentukan radikal bebas baru (Winarsi, 2005). Contohnya adalah senyawa fenol dan flavonoid (Pokorni *et al.*, 2001).
- b. Antioksidan sekunder, yaitu antioksidan eksogen atau antioksidan non enzimatis yang dikenal sebagai penangkap radikal bebas (*scavenger free radical*) yang kemudian mencegah amplifikasi radikal. Contohnya adalah vitamin E, vitamin C, karoten dan isoflavon (Winarsi, 2005).
- c. Antioksidan tersier, yaitu antioksidan yang memperbaiki kerusakan-kerusakan yang telah terjadi. Senyawa yang termasuk golongan ini adalah enzim yang memperbaiki DNA dan metionin sulfoksida reduktase (Winarsi, 2005).

4. DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)

Radikal bebas yang umum digunakan sebagai model dalam penelitian antioksidan atau peredam radikal bebas adalah 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH)

(Yokozawa *et al.*, 1998 *cit* Windono *et al.*, 2001). DPPH merupakan radikal sintetik yang larut dalam pelarut polar seperti etanol (Pokorni *et al.*, 2001), berwarna ungu gelap dan mengandung nitrogen tidak stabil dengan absorbansi kuat pada panjang gelombang 517 nm. Setelah bereaksi dengan senyawa antioksidan, DPPH tersebut akan tereduksi dan warnanya akan berubah menjadi kuning (Gambar 2). Perubahan tersebut dapat diukur dengan spektrofotometer dan diplotkan terhadap konsentrasi (Reynertson, 2007). Metode DPPH dipilih karena merupakan metode yang sederhana, cepat dan mudah untuk skreening aktivitas penangkap radikal beberapa senyawa (Koleva *et al.*, 2001 *cit* Marxen *et al.*, 2007). Selain itu, metode ini terbukti akurat, reliabel dan praktis (Prakash *et al.*, 2001).



Gambar 2. Reaksi Radikal Bebas DPPH dengan Antioksidan (Windono *et al.*, 2001)

5. Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan dengan tujuan agar zat berkhasiat yang terdapat pada simplisia diperoleh dalam bentuk yang mempunyai kadar tinggi (Anief, 1997). Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai yang

kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan (Anonim, 1995) dan didapatkan ekstrak kering (Harborne, 1987).

Metode ekstraksi yang cepat dan teliti diperlukan untuk mendapatkan senyawa khas (zat aktif) dalam suatu tumbuhan (Harborne, 1987). Pemilihan metode ekstraksi didasarkan pada sifat-sifat sumber bahan alami dan senyawa yang akan disari serta disesuaikan dengan kepentingan untuk memperoleh kandungan kimia yang diinginkan (Harborne, 1987).

Salah satu metode penyarian yang banyak digunakan adalah maserasi. Maserasi merupakan proses penyarian yang paling sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam bahan-bahan tumbuhan yang telah dihaluskan dalam pelarut terpilih kemudian disimpan dalam waktu tertentu dalam ruang yang gelap dan sesekali diaduk (Anief, 1997). Metode ini memiliki keuntungan yaitu cara pengerjaannya yang mudah, alat yang digunakan sederhana, cocok untuk bahan yang tidak tahan pemanasan. Kerugiannya adalah pelarut yang digunakan cukup banyak (Anonim, 1986).

6. Fraksinasi

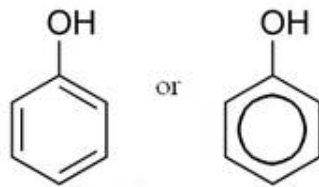
Fraksinasi merupakan cara pemisahan yang bertujuan untuk memisahkan senyawa golongan utama dari kandungan yang satu dengan kandungan yang lain. Fraksinasi dapat dilakukan secara partisi maupun kromatografi. Pemisahan senyawa dengan proses partisi dipengaruhi terutama oleh perbedaan polaritas solut yang dipisahkan. Hal ini disebabkan karena polaritas merupakan faktor yang menentukan daya larut (Adnan, 1997). Senyawa yang bersifat polar akan masuk

ke pelarut polar dan senyawa non polar akan masuk ke pelarut non polar (Harborne, 1987).

Pada proses partisi sistemnya terdiri dari dua jenis pelarut yang berbeda polaritasnya. Hal ini menyebabkan dua jenis pelarut tidak dapat campur. Campuran solut tidak sama kelarutannya pada kedua jenis pelarut sehingga dapat terjadi pemisahan (Adnan, 1997). Campuran dua komponen dimasukkan dalam pelarut, kemudian dimasukkan ke dalam corong pisah dan dikocok agar bercampur sempurna. Setelah itu, dibiarkan sampai pelarut keduanya memisah (Syukri, 1999).

7. Fenolik dan flavonoid

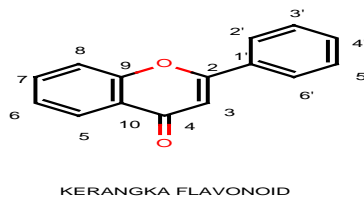
Polifenol merupakan senyawa turunan fenol yang mempunyai aktivitas sebagai antioksidan (Hernani dan Rahardjo, 2006). Senyawa fenol memiliki ciri yaitu memiliki cincin aromatik yang mengandung satu atau dua gugus hidroksi (Gambar 3) dan bersifat mudah larut dalam air (Harborne, 1987). Senyawa fenolik banyak terkandung dalam tanaman, seperti pada buah, sayuran, kulit buah, batang tanaman, daun, biji dan bunga (Harborne, 1993).



Gambar 3. Struktur Umum Fenolik (Harborne, 1987)

Salah satu golongan senyawa fenolik adalah senyawa flavonoid. Flavonoid umumnya terdapat pada hampir semua bagian tumbuhan seperti akar, batang,

daun, bunga, tepung sari, buah, biji, kayu, kulit kayu (Anonim, 2006). Flavonoid merupakan golongan senyawa fenol yang mengandung 15 atom karbon dalam inti dasarnya yang tersusun dalam konfigurasi C₆-C₃-C₆ yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh satuan tiga karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga (Markham, 1988) (Gambar 4). Aglikon flavonoid (flavonoid tanpa gula terikat) pada tumbuhan terdapat dalam berbagai bentuk struktur. Ciri-ciri flavonoid yaitu bersifat agak asam dan dapat larut dalam basa, senyawa polar dan larut dalam pelarut-pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, dimetilsulfoksida, dimetilformamida, air dan lain-lain (Markham, 1988).



Gambar 4. Struktur Umum Flavonoid (Markham,1988)

8. Spektrofotometri

Spektroskopi serapan ultraviolet dan serapan sinar tampak merupakan cara tunggal yang paling berguna untuk menganalisis flavonoid (Markham, 1988). Spektrofotometri UV-Vis merupakan tehnik spektroskopik yang memakai sumber radiasi elektromagnetik ultraviolet dekat (190-380 nm) dan sinar tampak (380-780 nm) dengan memakai instrument spektrofotometer. Spektrofotometer UV-Vis melibatkan energi elektronik yang cukup besar pada molekul yang

dianalisis sehingga spektrofotometer UV-Vis lebih banyak dipakai untuk analisis kuantitatif dibandingkan kualitatif (Mulya dan Suharman, 1995).

Semua molekul mempunyai energi dan jika suatu molekul bergerak dari suatu tingkat energi ke tingkat energi yang lebih rendah maka beberapa energi akan dilepaskan. Energi ini hilang sebagai radiasi dan dikatakan telah terjadi emisi radiasi. Jika suatu molekul dikenai suatu radiasi elektromagnetik pada frekuensi yang sesuai sehingga energi molekul tersebut ditingkatkan ke level yang lebih tinggi maka terjadi peristiwa penyerapan (absorpsi) energi oleh molekul (Gandjar dan Rohman, 2008). Serapan cahaya oleh suatu molekul dalam daerah spektrum UV-Vis tergantung pada struktur elektronik molekul (Mulya dan Suharman, 1995). Banyaknya sinar yang diabsorpsi pada panjang gelombang tertentu sebanding dengan banyaknya molekul yang menyerap radiasi (Gandjar dan Rohman, 2008).

E. Landasan Teori

Kandungan senyawa fenolik, flavonoid dan beberapa vitamin seperti vitamin C dan vitamin E yang terdapat dalam buah-buahan dipercaya memiliki aktivitas antioksidan. Buah rambutan diketahui memiliki kandungan vitamin C yang baik (Mangku *et al.*, 2006). Kulit dan biji rambutan dilaporkan mengandung flavonoid dan polifenol (Dalimartha, 2005). Penelitian penapisan fitokimia yang dilakukan oleh Asrianti *et al.* (2006) juga melaporkan bahwa biji buah rambutan memberikan hasil positif terhadap golongan senyawa flavonoid.

Penelitian Thitilerdecha *et al.* (2010) menyebutkan bahwa beberapa senyawa fenolik seperti asam ellagat, corilagin dan geraniin yang diisolasi dari ekstrak metanol kulit buah rambutan (*Nephelium lappaceum L.*) merupakan senyawa yang bertanggungjawab terhadap aktivitas antioksidannya. Pengujian aktivitas penangkap radikal pada kulit buah rambutan (*Nephelium lappaceum L.*) menggunakan metode DPPH menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit buah rambutan mempunyai nilai EC_{50} sebesar $1,62 \mu\text{m}/\text{mL}$ (Anshory *et al.*, 2006).

Aktivitas penangkap radikal berkorelasi positif dengan kandungan senyawa fenolik dan flavonoidnya. Semakin tinggi kadar senyawa fenolik dan flavonoid maka aktivitas penangkap radikalnya semakin meningkat. Koefisien korelasi (R^2) antara senyawa fenolik dan flavonoid terhadap aktivitas antioksidannya berturut-turut adalah sebesar 0,534 dan 0,967 seperti yang dilakukan oleh Utami *et al.* (2005) pada ekstrak daun dewandaru.

F. Hipotesis

Berdasarkan uraian di atas, dapat dirumuskan bahwa ekstrak etanol kulit dan biji rambutan serta fraksi-fraksinya memiliki aktivitas penangkap radikal bebas yang tinggi dengan menggunakan metode DPPH serta aktivitasnya sebanding dengan jumlah senyawa fenolik dan flavonoid total yang dimiliki.