

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang**

Penyakit jantung koroner atau yang lebih dikenal dengan atherosklerosis menjadi *silent killer* nomor satu di dunia. Salah satu penyebabnya adalah molekul besar lemak yang disebut LDL atau *Low Density Lipoprotein* yang teroksidasi oleh radikal bebas. LDL yang teroksidasi akan meningkat dan mengendap di pembuluh darah jantung sehingga menjadi sempit dan aliran darah terganggu, akibatnya sebagian sel-sel jantung tidak tercukupi makanan dan mati (Kumalaningsih, 2006).

Selain itu radikal bebas juga menyebabkan penyakit degeneratif pada manusia seperti kanker, penyakit hati dan penyakit cerebrovaskuler melalui mekanisme berantai (Lee *et al.*, 2003). Hal ini dikarenakan radikal bebas adalah spesi kimia yang memiliki pasangan elektron bebas di kulit terluar sehingga sangat reaktif dan mampu bereaksi dengan protein, lipid, karbohidrat dan DNA yang berujung pada timbulnya penyakit (Anonim<sup>d</sup>, 2005). Jika radikal bebas tersebut bereaksi dengan protein akan mengakibatkan katarak karena menyebabkan protein rusak (Kumalaningsih, 2006), dan jika bereaksi dengan DNA akan mengakibatkan DNA menjadi rusak sehingga timbul penyakit kanker, kardiovaskuler dan penyakit degeneratif (Vaya and Aviram, 2001).

Radikal bebas dapat masuk ke dalam dan terbentuk ke dalam tubuh melalui pernapasan, kondisi lingkungan yang tidak sehat seperti asap rokok, pembakaran

yang tidak sempurna dari kendaraan bermotor, bahan pencemar dan polusi udara serta makanan berlemak (Kumalaningsih, 2006). Selain itu munculnya radikal bebas juga dapat dipicu oleh stress fisik dan mental, kurang olahraga, alkohol, bahan pengawet, pewarna dan pestisida (Anonim, 2006).

Timbulnya radikal bebas dalam tubuh dapat diredam dengan antioksidan (Hanani dkk, 2005) yaitu senyawa yang mempunyai struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya kepada molekul radikal bebas dan dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas (Kumalaningsih, 2006). Antioksidan juga dapat menghambat spesies oksigen reaktif/spesies nitrogen reaktif (ROS/RNS) dan radikal bebas sehingga antioksidan dapat mencegah penyakit-penyakit yang dihubungkan dengan radikal bebas seperti karsinogenesis, kardiovaskuler dan penuaan (Halliwell and Gutteridge, 2000 *cit* Rohman dan Riyanto, 2004).

Akhir-akhir ini penggunaan senyawa antioksidan berkembang pesat, baik untuk makanan maupun untuk pengobatan. Penggunaan antioksidan juga tersebar luas dalam industri diantaranya digunakan untuk mencegah polimer dari degradasi oksidasi, plastik dan karet dari penurunan kekuatan, gasolin dari autoksidasi, pewarna sintetik dan alami dari diskolorisasi dan sebagai zat tambahan untuk kosmetik dan makanan, khususnya makanan dengan kadar lemak tinggi (Vaya and Aviram, 2001). Hal inilah yang mendorong dilakukannya penelitian untuk memperoleh antioksidan alami yang berasal dari tumbuhan.

Secara alami, tumbuhan yang mengandung antioksidan tersebar pada berbagai bagian tumbuhan seperti akar, batang, kulit, ranting, daun, buah, bunga dan biji. Umumnya antioksidan tersebut termasuk golongan senyawa fenolat seperti flavonoid, senyawa hidroksinat, kumarin, tokoferol dan asam organik

polifungsional (Muchtaridi dkk, 2005). Senyawa fenolik inilah yang kebanyakan digunakan sebagai antioksidan karena mampu menghambat radikal bebas dengan mekanisme sumbangan hidrogen dan stabilisasi resonansi (Fessenden dan Fessenden, 1986).

Potensi Indonesia sebagai negara yang kaya akan spesies tumbuh-tumbuhan tidak dapat dipungkiri. Tidak lebih dari 3% dari keseluruhannya yang sudah dieksplorasi sebagai sumber obat-obatan, pengganti makanan dan netraseutikal (Anonim, 2002). Salah satu tumbuhan asli Indonesia adalah dewandaru (*Eugenia uniflora* L.) yang tersebar di pulau Jawa (Backer and Brink, 1965) dan Sumatera (Hutapea, 1991). Dewandaru adalah tanaman yang mengandung saponin, flavonoid, tanin (Hutapea, 1991), antocyanin, cyanidin-3-glukosida (Eindbond *et al.* 2004), vitamin C dan senyawa atsiri seperti sineol, sitronella, terpenin dan sesquiterpen (Anonim, 1992).

Beberapa penelitian terdahulu yang pernah dilakukan adalah oleh Einbond *et al.* (2004) yang membuktikan adanya aktivitas antiradikal fraksi air etanol dari ekstrak etanol buah dewandaru mempunyai nilai  $IC_{50}$  sebesar 4,0  $\mu\text{g/ml}$  dan senyawa yang bertanggungjawab terhadap aktivitas tersebut adalah senyawa antosianin. Dalam penelitian Velazquez *et al.* (2002), menyebutkan bahwa dewandaru (*Eugenia uniflora* L.) dari fraksi etil asetat mempunyai nilai  $IC_{50}$  sebesar 1,3  $\mu\text{g/ml}$ .

Terakhir adalah penelitian Utami dkk (2005) yang membuktikan adanya aktivitas antiradikal ekstrak etanol daun dewandaru sebesar 8,866  $\mu\text{g/ml}$  dan senyawa yang bertanggungjawab terhadap aktivitas tersebut adalah flavonoid.

Hal inilah yang mendorong peneliti untuk meneliti lebih jauh ekstrak etanol daun dewandaru (*Eugenia uniflora* L.) yang sudah terbukti sebagai antiradikal, yaitu dengan memfraksi dengan gradien konsentrasi untuk mendapatkan fraksi dengan kepolaran yang bertingkat (dari yang non polar ke yang lebih polar) sehingga dapat diketahui kemampuan antiradikal dari fraksi-fraksi tersebut. Penelitian ini menggunakan fraksi yang lebih non polar dan menggunakan vitamin E sebagai pembanding karena vitamin E adalah antioksidan fenolik alami (Hart *et al*, 2003).

### **B. Perumusan Masalah**

Berdasarkan pada latar belakang penelitian diatas, dapat dirumuskan beberapa permasalahan:

1. Apakah fraksi non polar ekstrak etanol daun dewandaru (*Eugenia uniflora* L.) mempunyai aktivitas antiradikal ?
2. Fraksi manakah yang paling efektif sebagai antiradikal dilihat dari nilai IC<sub>50</sub> masing-masing fraksi non polar ekstrak etanol daun dewandaru (*Eugenia uniflora* L.) ?
3. Berapa kadar total fenol dan flavonoid masing-masing fraksi non polar ekstrak etanol daun dewandaru (*Eugenia uniflora* L.) dan bagaimana korelasinya dengan aktivitas antiradikal ?

### C. Tujuan Penelitian

Penelitian bertujuan untuk mengetahui aktivitas antiradikal fraksi non polar dari ekstrak etanol daun dewandaru (*Eugenia uniflora* L.). Penelitian ini juga bertujuan untuk menetapkan kadar senyawa fenolik dan flavonoid fraksi non polar ekstrak etanol daun dewandaru (*Eugenia uniflora* L.) yang diduga bertanggungjawab terhadap aktivitas penangkapan radikal bebas.

### D. Tinjauan Pustaka

#### 1. Radikal Bebas

##### a. Pengertian Radikal Bebas

Radikal bebas adalah atom/molekul yang sangat aktif dan tidak stabil karena kehilangan pasangan elektron pada orbital terluarnya (Kumalaningsih, 2006), hal ini mengakibatkan tidak stabilnya atom atau molekul tersebut (Windono dkk, 2001).

Untuk menjadi stabil atom atau molekul ini perlu mendapatkan suatu elektron dengan cara mengambil satu elektron dari molekul lain sehingga mengakibatkan molekul lain ini akan menjadi radikal bebas karena kehilangan satu elektronnya (Anonim<sup>c</sup>, 2005). Akibat reaksi tersebut, molekul donor menjadi radikal baru yang tidak stabil dan memerlukan elektron dari molekul sekitarnya untuk menjadi stabil sehingga mengakibatkan terjadinya reaksi berantai dari perpindahan elektron-elektron (Windono dkk, 2001).

b. Efek Berbahaya Radikal Bebas

Radikal bebas dalam jumlah berlebih dapat menyebabkan sejumlah aksi patologis dalam tubuh (Midleton *et al.*, 2000) antara lain jika radikal bebas tersebut bereaksi dengan protein akan mengakibatkan katarak karena menyebabkan protein rusak (Kumalaningsih, 2006) dan menimbulkan penyakit kanker, kardiovaskuler dan penyakit degeneratif jika bereaksi dengan DNA yang mengakibatkan DNA menjadi rusak (Vaya and Aviram, 2001).

Radikal bebas jika dalam tubuh jumlahnya sangat banyak dapat berpotensi menonaktifkan berbagai enzim, mengoksidasi lemak dan mengganggu DNA tubuh sehingga terjadi mutasi sel yang merupakan awal timbulnya kanker. Radikal bebas juga menyebabkan menempelnya kolesterol jahat di dinding pembuluh arteri sehingga menyebabkan pengerasan dinding arteri dan pada akhirnya mengganggu kinerja jantung (Anonim<sup>c</sup>, 2005).

Reaksi pembentukan radikal bebas merupakan mekanisme biokimia tubuh normal. Radikal bebas lazimnya hanya bersifat perantara yang bisa dengan cepat diubah menjadi substansi yang tak lagi membahayakan tubuh. Namun, bila radikal bebas bertemu dengan enzim atau asam lemak tak jenuh ganda, maka merupakan awal dari kerusakan sel antara lain: kerusakan DNA (*deoxyribonucleic acid*) pada inti sel, kerusakan membran sel, kerusakan protein, kerusakan lipid peroksida dan dapat menimbulkan autoimun, yaitu terbentuknya antibodi terhadap suatu sel dalam tubuh biasa dan hal ini dapat merusak jaringan tubuh dan sangat berbahaya (Anonim<sup>b</sup>, 2005).

c. Sumber radikal bebas

Sumber radikal bebas bisa berasal dari dalam tubuh kita sendiri (endogen), bisa pula dari luar tubuh (eksogen). Radikal endogen terbentuk sebagai sisa proses metabolisme (proses pembakaran) protein, karbohidrat dan lemak yang kaya konsumsi. Sedangkan radikal bebas eksogen berasal dari polusi udara, asap kendaraan bermotor, asap rokok, pelbagai bahan kimia, makanan yang terlalu hangus (*carbonated*) dan lain sebagainya (Anonim<sup>e</sup>, 2005).

Sumber radikal bebas baik endogenus maupun eksogenus terjadi melalui sederetan mekanisme reaksi. Yang pertama pembentukan awal radikal bebas (inisiasi), lalu perambatan atau terbentuknya radikal baru (propagasi) dan tahap akhir (terminasi) yaitu pemusnahan atau perubahan menjadi radikal bebas stabil dan tidak reaktif (Anonim<sup>d</sup>, 2005)

Sumber endogenus dapat melewati autooksidasi, oksidasi enzimatik, fagositosis dalam respirasi, transpor elektron di mitokondria, oksidasi ion-ion logam transisi atau melalui iskemik. Contoh autooksidasi adalah lemak hidrogenasi, yaitu lemak yang ikatan rangkap tak jenuhnya telah disubstitusi dengan hidrogen. Lemak ini sangat berbahaya karena dapat mengubah kemampuan serap selaput sel sehingga mengakibatkan fungsi selaput sel sebagai pelindung menjadi tidak berarti (Kumalaningsih, 2006).

Sumber eksogenus radikal bebas yakni berasal dari luar sistem tubuh, diantaranya polusi udara, radiasi, zat-zat kimia (obat-obatan dan insektisida) dan makanan-makanan tertentu yang masuk kedalam tubuh manusia (Windono dkk, 2001).

## 2. Antioksidan

### a. Pengertian Antioksidan

Secara umum antioksidan didefinisikan sebagai senyawa yang mempunyai struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya kepada molekul radikal bebas dan dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas (Kumalaningsih, 2006). Antioksidan juga dapat menghambat spesies oksigen reaktif/spesies nitrogen reaktif (ROS/RNS) dan radikal bebas sehingga antioksidan dapat mencegah penyakit-penyakit yang dihubungkan dengan radikal bebas seperti karsinogenesis, kardiovaskuler dan penuaan (Halliwell and Gutteridge, 2000 *cit* Rohman dan Riyanto, 2004).

### b. Penggolongan Antioksidan

Berkaitan dengan fungsinya senyawa-senyawa antioksidan dapat diklasifikasikan dalam 5 (lima) tipe antioksidan (Kumalaningsih, 2006), yaitu:

#### 1.) Antioksidan Primer

Antioksidan ini berfungsi untuk mencegah terbentuknya radikal bebas baru karena ia dapat merubah radikal bebas yang ada menjadi molekul yang berkurang dampak negatifnya, yaitu sebelum bereaksi (Kumalaningsih, 2006). Contoh antioksidan ini adalah flavonoid, tokoferol dan asam ascorbat yang dapat memutus reaksi rantai radikal bebas melalui donor elektron peksil radikal dari asam lemak dan menghentikan tahap propagasi, enzim glutathion peroksidase yang bertindak sebagai antioksidan reaksi reduksi oksidasi lemak dan fosfolipid hidroperoksida (Vaya and Aviram, 2001).



## 2.) Antioksidan Sekunder

Yaitu senyawa-senyawa yang mempunyai kemampuan untuk mendekomposisi hidropoksida menjadi produk akhir yang stabil. Pada umumnya tipe antioksidan ini berfungsi menangkap senyawa serta mencegah terjadinya reaksi berantai. Contoh antioksidan sekunder adalah vitamin E, vitamin C, betakaroten, asam urat, bilirubin dan albumin (Anonim<sup>c</sup>, 2005).

## 3.) Antioksidan Tersier

Merupakan senyawa yang memperbaiki sel-sel dan jaringan yang rusak karena serangan radikal bebas. Biasanya yang termasuk kelompok ini adalah jenis enzim misalnya metionin sulfoksidan reduktase yang dapat memperbaiki DNA dalam inti sel. Enzim tersebut bermanfaat untuk perbaikan DNA pada penderita kanker (Kumalaningsih, 2006).

## 4.) Penangkap Oksigen

Yaitu senyawa-senyawa yang berperan sebagai pengikat oksigen sehingga tidak mendukung reaksi oksidasi. Dalam hal ini senyawa tersebut akan mengadakan reaksi dengan senyawa oksigen yang berada dalam sistem sehingga jumlah oksigen akan berkurang. Contoh senyawa-senyawa kelompok ini adalah vitamin C (asam askorbat) (Kumalaningsih, 2006).

## 5.) Senyawa Pengkhelat

Kemampuan antioksidan dalam mengkhelat ion logam transisi melalui reaksi langsung dan tak langsung dari reduksi oksidasi logam yang dapat mengkatalisis logam menjadi radikal bebas (Vaya and Aviram, 2001).

c. Sumber Antioksidan

Kumalaningsih (2006), berdasarkan sumbernya antioksidan dibagi dalam tiga kelompok yaitu antioksidan yang dibuat oleh tubuh sendiri, antioksidan alami (hasil ekstraksi bahan alami) dan antioksidan sintetis (diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia).

a.) Antioksidan yang dibuat oleh tubuh sendiri

Yaitu berupa enzim antara lain superoksida dismutase, glutathion peroksidase, peroksidase dan katalase (Kumalaningsih, 2006).

b.) Antioksidan alami

Antioksidan alami tersebar di beberapa bagian tanaman seperti pada kayu, kulit kayu, akar, daun, buah, bunga, biji dan serbuk sari. Senyawa antioksidan alami tumbuhan umumnya adalah senyawa fenolat atau polifenol yang dapat berupa golongan flavonoid turunan asam sinamat, kumarin, tokoferol dan asam-asam organik polifungsional (Muchtari dkk, 2005).

c.) Antioksidan sintetis

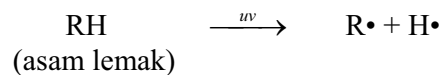
Adalah senyawa antioksidan yang diisolasi dari sumber alami dan ditambahkan ke makanan sebagai bahan tambahan. Beberapa contoh antioksidan sintetis yang diizinkan untuk makanan yang penggunaannya meluas dan menyebar diseluruh dunia yaitu *butil hidroksi anisol* (BHA), *butil hidroksi toluen* (BHT), propil gallat, *tertier butil hidroksi quinon* (TBHQ) dan tokoferol (Kumalaningsih, 2006).

#### d. Reaksi Pembentukan Radikal

Menurut Ege (1994), reaksi radikal bebas dibagi menjadi tiga tahap yaitu: inisiasi, propagasi dan terminasi. Skema reaksi dari masing-masing tahapan tersebut adalah sebagai berikut:

##### a.) Inisiasi

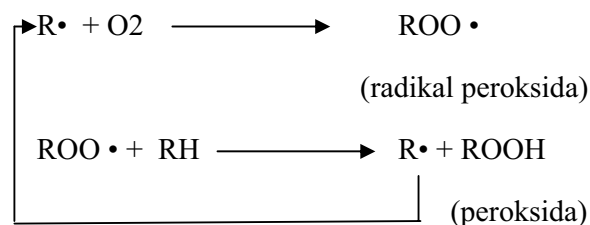
Sinar ultraviolet (UV), oksigen singlet, logam berat dan pemanasan menghasilkan radikal dari senyawa organik, misalnya asam lemak. Pembentukan radikal asam lemak menjadikannya bersifat tidak stabil dan sangat reaktif akibat hilangnya satu atom hidrogen.



(Kumalaningsih, 2006).

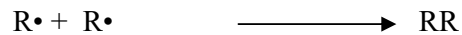
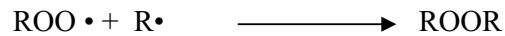
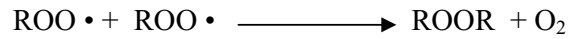
##### b.) Propagasi (perambatan)

Pada tahap propagasi radikal bereaksi dengan oksigen sehingga menghasilkan radikal peroksida. Radikal peroksida tersebut bereaksi cepat dengan mengambil hidrogen dari asam lemak untuk menjadi stabil, kemudian menghasilkan radikal asam lemak baru. Radikal asam lemak bereaksi kembali dengan oksigen sehingga menghasilkan radikal peroksida lain dan terjadilah reaksi berantai.



(Pokorni *et al.*, 2002 *cit* Rohman dan Riyanto, 2004).

## c.) Terminasi (penghentian)



(produk stabil)

(Rohman dan Riyanto, 2004)

Tahap terminasi berlangsung jika radikal bebas bertemu dengan radikal peroksida bereaksi dengan antioksidan bukan dengan asam lemak. Radikal peroksida bereaksi dengan antioksidan menghasilkan radikal antioksidan. Radikal antioksidan dapat bereaksi dengan sesamanya dan menghasilkan produksi radikal. Terbentuknya produk non radikal menyebabkan reaksi terhenti.

## e. Metode pengujian aktivitas antioksidan

Rohman dan Riyanto (2004), terdapat beberapa metode pengujian aktivitas antioksidan yaitu:

## a.) Pengujian penangkapan radikal

Pengujian cara ini dilakukan dengan cara mengukur penangkapan radikal sintatik dalam pelarut organik polar seperti etanol atau metanol pada suhu kamar. Radikal sintatik yang digunakan adalah DPPH (*2,2-difenil-1-pikrilhidrazil*) dan ABTS (*2,2'-azinobis(3-etil benzthiazolin-asam sulfonat)*). Dengan uji ini penangkapan radikal DPPH oleh suatu senyawa diikuti dengan mengamati penurunan absorbansi pada 517 nm yang terjadi karena reduksi radikal tersebut oleh antioksidan (AH) atau bereaksi dengan spesies radikal lain (Windono dkk, 2004).

b.) Pengujian aktivitas antioksidan dengan sistem *linoleat-toasianat*

Asam linoleat merupakan asam lemak tidak jenuh dengan dua buah ikatan rangkap yang mudah mengalami oksidasi membentuk peroksida. Peroksida ini selanjutnya mengoksidasi ion fero menjadi ion feri. Ion feri bereaksi dengan amonium tiosianat membentuk kompleks feritiosianat ( $\text{Fe}(\text{CNS})_3$ ) yang berwarna merah. Intensitas warna merah ini diukur absorbansinya pada panjang gelombang 490 nm. Semakin intens warna merahnya menunjukkan bahwa semakin banyak peroksida yang terbentuk (Rohman dan Riyanto, 2004).

c.) Pengujian dengan asam tiobarbiturat atau TBA (*Thio Barbituric Acid*)

Pengujian ini berdasarkan adanya monoaldehid yang terbentuk dari asam lemak bebas tidak jenuh dengan palung sedikit mempunyai 3 ikatan rangkap dua. Monoaldehid selanjutnya bereaksi dengan asam tiobarbiturat membentuk produk kromogen yang berwarna merah yang dapat diukur absorbansinya pada panjang gelombang 532 nm (Pokorni *et al.*, 2002 cit Rohman dan Riyanto, 2004).

d.) Pengujian dengan Metode *O-fenantrolin*

Pengujian ini berdasarkan kemampuan mereduksi ion feri menjadi ion fero yang akan membentuk kompleks dengan *O-fenantrolin* berwarna merah spesifik (Da'i dan Margono, 2001).

### 3. Vitamin E

Vitamin E ( *$\alpha$ -tokoferol*) ialah antioksidan fenolik alami yang melindungi tubuh terhadap radikal bebas (Hart *et al.*, 2003) terutama dalam melindungi

sel-sel membrane dan LDL (*Low Density Lipoprotein*) kolesterol dari kerusakan radikal bebas, serta memperlambat proses penuaan pada arteri dan melindungi tubuh dari kerusakan sel-sel yang akan menyebabkan penyakit kanker, penyakit hati dan katarak ( Hernani dan Raharjo, 2006).

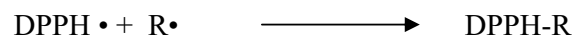
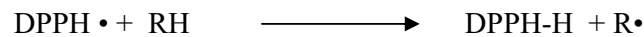
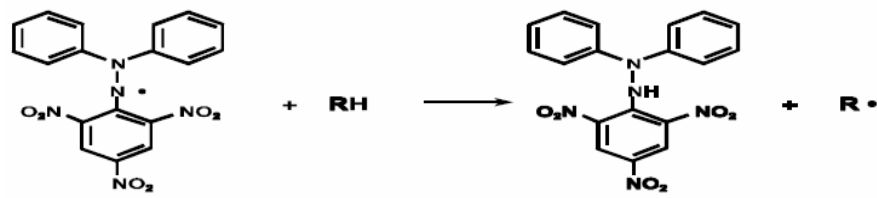
Vitamin E ( *$\alpha$ -tokoferol*) adalah antioksidan dengan efektivitas yang tinggi dalam fase lipid dari membrane sel, mampu memecah reaksi rantai dengan menangkap sebuah radikal peroksil. Radikal tokoferol ( $\text{TO}\bullet$ ) selanjutnya dapat stabil, salah satunya dengan mendonorkan sebuah elektron kedua untuk membentuk sebuah turunan quinon (Vaya and Aviram, 2001).

#### **4. Metode DPPH**

##### **a. Metode DPPH**

DPPH (*2,2-diphenil-1-picrylhydrazyl*) adalah radikal bebas yang stabil berwarna ungu. Ketika direduksi oleh radikal akan berwarna kuning (*diphenylpicrylhydrazine*). Metode DPPH berfungsi untuk mengukur elektron tunggal seperti aktivitas transfer hidrogen dan untuk mengukur aktivitas penghambatan radikal bebas. Metode ini sangat cocok untuk skrining awal berbagai sampel terutama ekstrak tumbuhan (Pezzuto, 2002).

Adanya senyawa yang bereaksi sebagai antiradikal akan mereduksi radikal DPPH (Gambar 1). Sebagai akibatnya maka penambahan senyawa yang bereaksi sebagai antiradikal akan menunjukkan konsentrasi DPPH ini. Adanya penurunan konsentrasi DPPH akan menyebabkan penurunan absorbansinya dibandingkan dengan absorbansi kontrol yang tidak diberi dengan senyawa uji yang diduga mempunyai aktivitas antiradikal (Rohman dan Riyanto, 2004).



(Prakash, 2001)

**Gambar 1. Mekanisme Penghambatan Radikal DPPH.**

#### b. Spektrofotometer

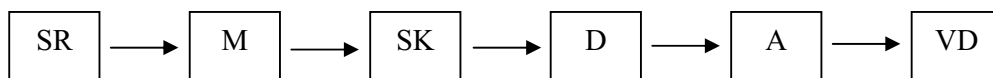
Spektrofotometer merupakan salah satu metode analisis senyawa dengan menggunakan serapan cahaya oleh molekul dalam daerah spektrum ultraviolet dan terlihat rentang pada struktur elektronik dari molekul spektra ultraviolet dan terlihat dari senyawa organik berkaitan dengan transisi diantara tingkatan-tingkatan tenaga elektronik. Oleh karenanya maka serapan radiasi ultraviolet sering dikenal dengan spektroskopi elektronik. Pengukuran serapan secara kuantitatif, berkas radiasi dikenakan pada cuplikan dan intensitas radiasi yang ditransmisikan diukur. Radiasi yang diserap oleh cuplikan ditentukan dengan membandingkan intensitas dari bekas radiasi yang ditransmisikan bila spesies penyerap ada. Kekuatan radiasi yaitu intensitas dari berkas cahaya sebanding dengan jumlah foton per detik yang melalui satu satuan luas penampang, jika foton yang mengenai cuplikan tenaga yang sama

dengan yang dibutuhkan untuk menyebabkan terjadinya perubahan tenaga maka serapan terjadi kekuatan radiasi juga diturunkan dengan adanya penghamburan dan pemantulan, namun demikian pengurangan ini sangat kecil bila dibandingkan dengan serapan (Sastrohamijojo, 1991).

Spektrofotometri UV-Vis dapat digunakan untuk penentuan kadar terhadap sampel berupa larutan, gas atau uap. Sampel yang berbebtuk larutan perlu diperhatikan beberapa persyaratan pelarut yan digunakan. Syarat-syarat pelarut yang baik antara lain:

- 1.) Pelarut yang dipakai pada struktur molekulnya tidak mengandung sistem ikatan rangkap terkonjugasi dam tidak berwarna.
- 2.) Tidak terjadi interaksi dengan molekul senyawa yang dianalisis.
- 3.) Kemurniannya harus tinggi.
- 4.) Polaritas harus diperhatikan sebab akan berpengaruh terhadap pergeseran spektra molekul (Mulja dan Suharman, 1995)

Pada umumnya konfigurasi dasar setiap spektrofotometer berupa susunan peralatan optik yang terkonstruksi (Gambar 2).



**Gambar 2. Rangkaian Alat Spektrofotometri.**

Keterangan :

SR : Sumber radiasi	D : Detektor
M : Monokromator	A : <i>Amplifier</i> atau penguat
SK : Sampel kompartemen	VD : <i>Visual display</i> (monitor)

(Mulja dan Suharman, 1995).



## 5. Uraian Tanaman

### a. Klasifikasi Tanaman

Klasifikasi tanaman dewandaru (*Eugenia uniflora* L.) sebagai berikut:

- Divisi : Spermatophyta  
 Sub divisi : Angiospermae  
 Kelas : Dicotyledonae  
 Bangsa : Myrtales  
 Suku : Myrtaceae  
 Marga : Eugenia  
 Jenis : *Eugenia uniflora* Linn.

(Backer and Brink, 1965)

### b. Nama Daerah

- Jawa : asam selong, blimbing londo, dewandaru  
 Sumatera : cereme asam

### c. Morfologi

- Habitus : perdu, tahunan, tinggi  $\pm$  5 m  
 Batang : tegak berkayu, bulat coklat  
 Daun : tunggal tersebar lonjong, ujung runcing, pangkal meruncing, tepi rata, pertulangan menyirip, panjang  $\pm$  5 cm, lebar  $\pm$  4 cm, hijau.  
 Bunga : tunggal, berkelamin dua, daun pelindung kecil, hijau, kelopak bertajuk tiga sampai lima, benang sari banyak, putih, putik silindris, mahkota berbentuk kuku, kuning.

Buah : buni, bulat, diameter  $\pm$  1,5 cm, merah  
Biji : kecil, keras, coklat  
Akar : tunggang, coklat.

d. Kandungan Kimia

*Eugenia* mengandung saponin, flavonoid, tanin (Hutapea, 1991), vitamin C, senyawa atsiri seperti sineol, sitronela, terpenin, sesquiterpen (Anonim, 1992) dan antosianin suatu turunan fenil benzo pirilium (Einbond *et al.*, 2004).

e. Kegunaan

Sebagai obat diare (Hutapea, 1991) dan obat flu (Anonim, 1992). Kandungan antosianin pada bagian buah telah diteliti oleh Einbond *et al.* (2004) sebagai anti radikal yang sangat aktif dengan nilai  $IC_{50}$  sekitar  $4 \pm 0,2$   $\mu\text{g/ml}$ .

## 6. Senyawa Fenolik

Senyawa-senyawa fenol seperti vitamin E dan flavonoid yang terdapat pada tanaman mampu berfungsi sebagai antioksidan primer (Kumalaningsih, 2006).

Flavonoid dapat berperan sebagai penangkap anion superoksida dan radikal hidroksi. Flavonoid dapat mendonorkan atom hidrogen ke radikal peroksi membentuk radikal flavonoid yang mudah bereaksi dengan radikal bebas sehingga reaksi radikal rantai berhenti (terminasi) (Rohman dan Riyanto, 2004).

Menurut Kumalaningsih (2006), golongan flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan meliputi flavon, flavonol, isoflavon, katekin dan kalkon.

Senyawa antioksidan polifenolik ini adalah multifungsional dan dapat bereaksi sebagai pereduksi, penangkap radikal bebas, pengkelat logam dan terbentuknya singlet oksigen.

Senyawa flavonoid ini telah terbukti secara *in vitro* mempunyai efek biologis yang sangat kuat sebagai antioksidan, menghambat penggumpalan keping-keping sel darah, merangsang produksi oksidasi nitrit yang dapat melebarkan pembuluh darah dan juga menghambat pertumbuhan sel kanker (Anonim<sup>b</sup>, 2005). Flavonoid seperti quersetin dan rutin diketahui sebagai antioksidan yang potensial karena disebabkan adanya gugus hidroksi fenolik dalam strukturnya (Hertiani dkk, 2001).

Penentuan kadar senyawa fenolik digunakan metode Folin-Ciocalteu dengan reagen Folin-Ciocalteu standar yang sangat peka terhadap asam. Sifat ini ditandai oleh pembacaan visual reagen Folin-Ciocalteu dari kuning ke biru dengan intensitas warna yang dapat diukur dengan spektro visibel dan dinyatakan dalam *Gallic Acid Equivalent* (GAE) yaitu jumlah kesetaraan milligram asam galat dalam gram ekstrak (Miliauskas, 2004).

## 7. Penelitian yang terkait

Penelitian terkait yang pernah dilakukan, diantaranya uji aktivitas antibakteri ekstrak kloroform dan metanol daun dewandaru (*Eugenia uniflora* L.) terhadap *Staphylococcus aureus*, *Shigella dysentriae* dan *Escherichia coli*. Hasil dari penelitian itu membuktikan bahwa daya aktivitas antibakteri ekstrak metanol lebih poten dari ekstrak kloroform berdasarkan uji hambat

pertumbuhan dilihat dari MIC (*minimum inhibitory concentration*) masing-masing ekstrak (Khatimah, 2004).

Adapun penelitian Einbond *et al.* (2004), membuktikan adanya aktivitas antiradikal fraksi air etanol dari ekstrak etanol buah dewandaru mempunyai nilai IC<sub>50</sub> sebesar 4,0 µg/ml dan senyawa yang bertanggungjawab terhadap aktivitas tersebut adalah senyawa antosianin. Dalam penelitian Velazquez *et al.* (2002), menyebutkan bahwa dewandaru (*Eugenia uniflora* L.) dari fraksi etil asetat mempunyai nilai IC<sub>50</sub> sebesar 1,3 µg/ml.

Terakhir adalah penelitian Utami dkk (2005) yang membuktikan adanya aktivitas antiradikal ekstrak etanol daun dewandaru sebesar 8,866 µg/ml dan senyawa yang bertanggungjawab terhadap aktivitas tersebut adalah flavonoid.

Hal inilah yang mendorong peneliti untuk meneliti lebih jauh dengan menfraksi ekstrak etanol daun dewandaru (*Eugenia uniflora* L.) sehingga dapat membandingkan kemampuan menangkap radikal antara ekstrak etanol dengan fraksi non polarnya.

### **E. Hipotesis**

Berdasarkan adanya kemampuan ekstrak etanol daun dewandaru (*Eugenia uniflora* L.) dalam menangkap radikal bebas, maka fraksi non polar ekstrak etanol diduga mempunyai aktivitas penangkap radikal bebas yang lebih efektif dibandingkan ekstrak etanolnya.