

**EFEK ANTIOKSIDAN FRAKSI LARUT ETIL ASETAT
EKSTRAK ETANOL DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava* L.)
PADA KELINCI YANG DIBEBANI GLUKOSA**

SKRIPSI



Oleh :

**DINI RIZQIA PUTRI
K 100 050 059**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
SURAKARTA
2009**

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Diabetes melitus di Indonesia dikenal dengan penyakit gula atau kencing manis yang didefinisikan sebagai sekumpulan gejala yang muncul pada seseorang yang ditandai dengan kadar glukosa darah yang melebihi normal (hiperglikemia) akibat tubuh kekurangan insulin baik relatif maupun absolut atau kurang efektifnya insulin (Rivai, 2002). Sekitar 200 juta orang di seluruh dunia dan 20 juta orang di Amerika menderita Diabetes melitus. Jumlah penderita penyakit diabetes melitus dengan penyakit kardiovaskular pada tahun 2000 sebesar 171 juta (2,8% populasi dunia) yang terus meningkat pada tahun 2030 menjadi 366 juta (6,5%), 298 juta diantaranya tinggal di negara berkembang (Kengne dkk., 2005).

Kereaktifan radikal bebas dapat menimbulkan berbagai penyakit degeneratif seperti diabetes melitus (Latief dkk., 2007). Pada penderita diabetes melitus, stres oksidatif akan menghambat pengambilan glukosa di sel otot dan sel lemak serta penurunan sekresi insulin oleh sel- β di pankreas. Stres oksidatif secara langsung mempengaruhi dinding vaskular, sehingga berperan penting dalam patofisiologi terjadinya komplikasi diabetes tipe 2 (Soetedjo, 2009). Stres oksidatif adalah suatu keadaan ketidakseimbangan yang serius antara pembentukan radikal bebas dan sistem antioksidan yang menimbulkan kerusakan jaringan yang potensial (Rosen dkk., 2002). Radikal bebas didefinisikan sebagai sekelompok zat kimia yang sangat reaktif karena memiliki satu atau lebih elektron

yang tidak berpasangan (Fessenden dan Fessenden, 1994). Peningkatan dari radikal bebas tersebut dapat memicu peroksidasi lipid. Kerusakan akibat peroksidasi lipid dapat menghasilkan metabolit sekunder. Salah satunya adalah *malondialdehyd* (MDA) yang merupakan hasil akhir peroksidasi lipid (Josephy, 1997), dapat terlihat pada perkembangan diabetes tipe I dan tipe II (Rajasekaran dkk., 2005). Sehingga, pemberian antioksidan diperlukan pada pengobatan diabetes, karena obat antidiabetes tidak bekerja memperbaiki sel- β pankreas yang rusak akibat radikal bebas, tetapi menstimulasi pelepasan insulin dari sel- β pankreas (Adnyana dkk., 2004), dan dapat mencegah komplikasi mikrovaskular dan makrovaskular (Soetedjo, 2009). Hal ini diperkuat dengan adanya penelitian Algameta (2009) yang menunjukkan bahwa terjadi peningkatan kadar MDA sampai $301,56 \pm 177,44\%$ pada tikus yang dibebani glukosa dengan dosis 4,5 gram/kgBB.

Antioksidan sintetik telah diketahui mempunyai efek samping dalam kesehatan, diantaranya dapat menyebabkan karsinogenesis. Antioksidan terdapat dalam makanan atau sebagai suplemen seperti vitamin E, vitamin C, β -karoten, flavonoid, dan ubikuinon mampu meningkatkan proteksi kesehatan terhadap pengaruh radikal bebas dengan upaya mencegah kerusakan akibat proses oksidasi (Soetedjo, 2009). Hal tersebut mendorong semakin banyak dilakukan eksplorasi bahan alam sebagai sumber antioksidan (Hertiani dkk., 2001). Penelitian Haryatmi (2004) menunjukkan bahwa pemberian vitamin E sebagai antioksidan belum mampu menurunkan kadar lemak peroksida darah. Sehingga perlu

dilakukan penelitian tentang sumber antioksidan lain yang dapat menangkal radikal bebas.

Penelitian yang dilakukan oleh Yadav dkk. (2008) menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun jambu biji dosis 200 mg/kgBB efektif menurunkan kadar glukosa darah pada tikus yang diinduksi aloksan, serta pemberian ekstrak etanol daun jambu biji dosis 10 mg/kg secara intraperitoneal dapat menurunkan kadar glukosa darah pada tikus yang berumur 1 dan 3 bulan (Oh dkk., 2005). Penelitian Ojewole (2005) menunjukkan bahwa pemberian ekstrak air daun jambu biji dosis 50-800 mg/kgBB signifikan ($p < 0,05$) memberikan efek hipoglikemik pada tikus normal dan diabetes yang diinduksi streptozotisin.

Penelitian yang dilakukan oleh Tachakittirungrod^a dkk. (2007), menunjukkan bahwa tiga flavonoid aktif dari ekstrak metanol daun jambu biji yang tumbuh di Thailand yaitu kuersetin, kuersetin-3-*O*-glukopiranosid dan morin, memiliki aktivitas sebagai agen penangkap radikal bebas dengan IC_{50} $1,20 \pm 0,02$, $3,58 \pm 0,05$, dan $5,41 \pm 0,20$ $\mu\text{g/ml}$. Penelitian Tachakittirungrod^b dkk. (2007) membuktikan bahwa kandungan fenol dalam fraksi metanol memiliki aktivitas antioksidan paling tinggi, kemudian diikuti fraksi butanol dan etil asetat daun jambu biji yang diuji menggunakan tes ABTS (*Free Radical Decolorization Assay*) dan FRAP (*Ferric Reducing Power Assay*). Penelitian Susilawati (2008), menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun jambu biji dosis 5,407 mg/kgBB tikus selama 6 hari menunjukkan efek pencegahan terhadap peningkatan kadar MDA plasma akibat latihan olahraga.

Dalam penelitian ini digunakan fraksi etil asetat, karena dimungkinkan senyawa kuersetin (Josephy, 1997) dalam *Psidium guajava* L. akan terbawa masuk ke dalam fraksi etil asetat, sehingga dapat diuji aktivitasnya untuk mendapatkan kemungkinan senyawa yang berkhasiat sebagai antioksidan.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut maka dirumuskan suatu permasalahan yaitu:

1. Bagaimana pengaruh pembebanan glukosa pada kelinci terhadap kadar MDA?
2. Apakah fraksi larut etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) mempunyai efek antioksidan pada kelinci setelah dibebani dengan glukosa ?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini dilakukan untuk :

1. Mengetahui pengaruh pembebanan glukosa pada kelinci terhadap kadar MDA
2. Mengetahui efek penurunan MDA dari fraksi larut etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) pada kelinci setelah dibebani glukosa.

D. Tinjauan Pustaka

1. Tanaman Jambu Biji (*Psidium guajava* L.)

a. Sistematika tanaman

Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Bangsa	: Myrtales
Keluarga	: Myrtaceae
Marga	: Psidium
Varietas	: <i>Psidium guajava</i> L.

(Van Steenis, 2003)

b. Sinonim

Nama lain dari daun jambu biji adalah *P.aromaticum* Blanco, *P.pomiferum* L., *P.pyriferum* L. (Dalimartha, 2003).

c. Nama daerah

Tanaman jambu biji mempunyai beberapa nama daerah antara lain :

Sumatera : *glima breueh* (Aceh), *glimeu beru* (Gayo), *galiman* (Batak Karo), *masiambu* (Nias), *biawas*, *jambu biawas*, *jambu biji*, *jambu batu*, dan *jambu klutuk* (Melayu).

Jawa : *jambu klutuk* (Sunda), *bayawas*, *jambu krutuk*, *jambu krikil*, *petokal* (Jawa), dan *jhambu bhender* (Madura).

Nusa Tenggara : *sotong* (Bali), *guawa* (Flores), dan *goihawas* (Sika).

Sulawesi : *gayawas* (Manado), *boyawat* (Mongondow), *koyawas* (Tonsaw), *dambu* (Gorontalo), *jambu paratugala* (Makasar), *jambu paratukala* (Bugis), *jambu* (Baree), *kujabas* (Roti), dan *biabuto* (Buol).

Maluku : *kayawase* (Seram Barat), *kujawase* (Seram Selatan), *laine hatu*, *luhu hatu* (Ambon), dan *gayawa* (Ternate, Halmahera) (Dalimartha, 2003).

d. Morfologi tanaman

Jambu biji berasal dari Amerika tropik, tumbuh pada tanah yang gembur maupun liat, pada tempat terbuka dan mengandung air yang cukup banyak. Pohon ini banyak ditanam sebagai pohon buah-buahan. Namun, sering tumbuh liar dan dapat ditemukan pada ketinggian 1-1.200 m dpl. Jambu biji berbunga sepanjang tahun. Perdu atau pohon kecil, tinggi 2-10 m, percabangan banyak. Batangnya berkayu, keras, kulit batang licin, mengelupas, berwarna coklat kehijauan. Daun tunggal, bertangkai pendek, letak berhadapan, daun muda berambut halus, permukaan atas daun tua licin. Helaian daun berbentuk bulat telur agak jorong, ujung tumpul, pangkal membulat, tepi agak melekuk ke atas, pertulangan menyirip, panjang 6-14 cm, lebar 3-6 cm, berwarna hijau. Bunga tunggal, bertangkai, keluar dari ketiak daun, berkumpul 1-3 bunga, berwarna putih. Buahnya buah buni, berbentuk bulat sampai bulat telur, berwarna hijau sampai hijau kekuningan. Daging buah tebal, buah yang masak bertekstur lunak, berwarna putih kekuningan atau merah jambu. Biji buah dapat mengumpul di tengah, kecil, keras, berwarna kuning kecoklatan (Dalimartha, 2003).

e. Kandungan kimia

Daun jambu biji mengandung tannin dengan kadar 5-12%, minyak atsiri, minyak lemak dan asam malat (Anonim, 1989), flavonoid (kuersetin, kuersetin-3-*O*-glukopiranosid dan morin) (Tachakittirungrod^a dkk., 2007), senyawa polifenol (avikularin, guajjaverin, leukosianidin, asam elagat, asam psidiolat, amritosid, zat samak, pirogalol) (Sudarsono dkk., 1996).

f. Kegunaan

Jambu biji bukan hanya daunnya saja berkhasiat tetapi juga buah, bunga, dan kulit batangnya, seperti untuk pengobatan kencing manis (diabetes melitus), maag, sakit perut terutama diare, masuk angin, sariawan, sakit kulit, luka-luka, dan sebagainya (Anonim, 1986). Penelitian Tachakittirungrod dkk. (2007), menunjukkan bahwa tiga flavonoid aktif dari ekstrak metanol daun jambu biji yang tumbuh di Thailand yaitu kuersetin, kuersetin-3-*O*-glukopiranosid dan morin, mempunyai aktivitas antioksidan yang tinggi.

2. *Diabetes Mellitus*

a. Patofisiologi Diabetes Melitus

Diabetes melitus di Indonesia dikenal dengan penyakit gula atau kencing manis yang didefinisikan sebagai sekumpulan gejala yang muncul pada seseorang yang ditandai dengan kadar glukosa darah yang melebihi normal (hiperglikemia) akibat tubuh kekurangan insulin baik relatif maupun absolut atau kurang efektifnya insulin (Rivai, 2002).

Klasifikasi diabetes melitus berdasarkan etiologinya adalah sebagai berikut :

1. DM tipe I atau DM Tergantung Insulin (DMTI) atau *Insulin Dependent Diabetes Mellitus* (IDDM), akibat rusaknya pankreas oleh karena proses autoimun yang disebabkan adanya peradangan pada sel insulitis dan umumnya menjurus ke defisiensi (kekurangan) insulin absolut. Pada DM tipe I ini yang diserang pada insulitis itu hanya sel- β , pada umumnya sel-sel yang lain masih utuh (Woodley dan Wheland, 1995). Pada tipe ini terjadi destruksi pada sel- β pankreas, sehingga tidak memproduksi insulin lagi sehingga sel-sel tidak bisa menyerap glukosa dari darah (Katzung, 2002). Sehingga pada golongan diabetes ini tergantung pada terapi insulin eksogen untuk mempertahankan kehidupannya (Watts, 1984).
2. DM tipe II atau DM Tidak Tergantung Insulin (DMTTI) atau *Non Insulin Dependent Diabetes Mellitus* (NIDDM), mulai yang terutama dominan adalah resistensi insulin disertai defisiensi insulin relatif sampai yang terutama defek sekresi insulin disertai resistensi insulin. Tetapi juga ada beberapa faktor yang banyak berperan, seperti faktor keturunan, faktor lingkungan, dan kegemukan yang bersifat sentral (Katzung, 2002).
3. DM tipe lain, dapat disebabkan oleh defek genetik fungsi sel- β , defek genetik kerja insulin, penyakit eksokrin pankreas, endokrinopati, karena obat atau zat kimia, infeksi, sebab imunologi dan sindrom genetik lain yang berkaitan dengan diabetes melitus (Katzung, 2002).
4. *Diabetes Mellitus Gestasional* yaitu diabetes yang timbul selama kehamilan, artinya kondisi diabetes atau intoleransi glukosa yang didapati selama masa kehamilan, biasanya pada trimester kedua atau ketiga. *Diabetes Mellitus Gestasional* berhubungan dengan meningkatnya komplikasi perinatal (di sekitar

waktu melahirkan), dan sang ibu memiliki resiko untuk dapat menderita penyakit diabetes melitus yang lebih besar dalam jangka waktu 5 sampai 10 tahun setelah melahirkan (Woodley dan Wheland, 1995).

b. Hubungan antara *Diabetes Mellitus* dengan Radikal Bebas

Beberapa jalur mekanisme peningkatan stres oksidatif akibat kadar gula yang meningkat yaitu jalur poliol pada saraf perifer, jalur peningkatan produksi *Advanced Glycation End products* (AGEs), jalur aktivasi protein kinase C (*PKC*), jalur *hexosamine pathway flux* akibat modifikasi berlebihan dari protein oleh N-asetilglukosamin (Adi, 2009), autooksidasi glukosa pada diabetes melitus (Setiawan dan Suhartono, 2005), dan fosforilasi oksidatif (Robertson, 2004).

1. Jalur poliol pada saraf perifer

Enzim aldose reduktase dalam keadaan normal berfungsi mengurangi toksik aldehyd dalam sel dan mengubahnya menjadi inaktif alkohol. Dalam keadaan hiperglikemia, maka aldose reduktase akan mengubah glukosa menjadi sorbitol yang kemudian mengalami oksidasi menjadi fruktosa. Proses ini membutuhkan NADPH, suatu kofaktor esensial dalam proses pembentukan antioksidan intraseluler (Brownlee, 2005). Degradasi sorbitol ini berjalan lambat sehingga sorbitol menumpuk dalam sel, yang menyebabkan peningkatan tekanan osmotik dan selanjutnya dapat merusak sel sehingga kadar MDA meningkat (Chung dkk., 2003).

2. Jalur AGEs

Hiperglikemia meningkatkan produksi AGE prekursor, yang mengakibatkan kerusakan sel melalui 3 mekanisme. Pertama dengan cara

modifikasi protein intraseluler termasuk protein yang berperan dalam regulasi gen transkripsi. Kedua, AGE prekursor dapat berdifusi keluar dari sel, memodifikasi molekul matriks ekstraseluler yang berdekatan dengan sel dan mengacaukan *signaling* antara matriks dengan sel, menyebabkan disfungsi dari sel tersebut. Ketiga, AGE prekursor yang berdifusi keluar sel tersebut juga memodifikasi protein plasma yang kemudian berikatan dan mengaktifkan reseptor AGE dengan akibat pembentukan *inflammatory cytokines* dan *growth factors* yang menyebabkan kerusakan vaskuler sehingga kadar MDA meningkat (Brownlee, 2005).

3. Jalur aktivasi PKC

Hiperglikemia akan meningkatkan *diacylglycerol* (DAG) yang merupakan aktivating kofaktor penting untuk protein isoform PKC $-\beta$, $-\delta$, dan $-\alpha$. Apabila PKC diaktifkan oleh hiperglikemia intraseluler, akan menyebabkan beragam efek terhadap ekspresi gen dengan segala manifestasi klinis, misalnya penyakit mikrovaskuler yang dapat menyerang retina, aorta dan ginjal (Brownlee, 2005).

4. Jalur Heksosamin

Pada metabolisme heksosamin dalam kadar glukosa berlebihan, fruktosa-6-fosfat diubah menjadi glukosamin-6-fosfat dan asetilglukosamin yang dapat mensintesis glikoprotein. Hal ini dapat meningkatkan produksi hidrogen peroksida dan menyebabkan resistensi insulin (Robertson, 2004).

5. Autooksidasi glukosa

Proses autooksidasi glukosa menghasilkan *Reactive Oxygen Species* (ROS) pada sel β dan menyebabkan stres oksidatif pada pembebanan glukosa.

Proses ini dikatalisis oleh senyawa logam dalam jumlah kecil seperti besi dan seng. Hasil katalisis tersebut adalah senyawa oksigen reaktif yang dapat menghambat sekresi insulin. Autooksidasi glukosa terjadi pada fase I proses glikasi nonenzimatik pada protein yang secara alamiah masih bersifat reversibel. Akibat yang ditimbulkan berupa peningkatan aktivitas radikal superoksida serta kerusakan enzim superoksida dismutase (Robertson dkk., 2004; Soesilowati, 2003).

6. Fosforilasi oksidatif

Peningkatan kadar glukosa dapat meningkatkan proton mitokondria karena terlalu banyak donor elektron melalui siklus asam trikarboksilat. Hal ini dapat meningkatkan produksi superoksida mitokondria dan kegagalan pengeluaran insulin dari sel- β pankreas (Robertson, 2004).

Pada penderita diabetes melitus, stres oksidatif akan menghambat pengambilan glukosa di sel otot dan sel lemak serta penurunan sekresi insulin oleh sel- β di pankreas. Stres oksidatif secara langsung mempengaruhi dinding vaskular, sehingga berperan penting dalam patofisiologi terjadinya komplikasi diabetes tipe 2 (Soetedjo, 2009).

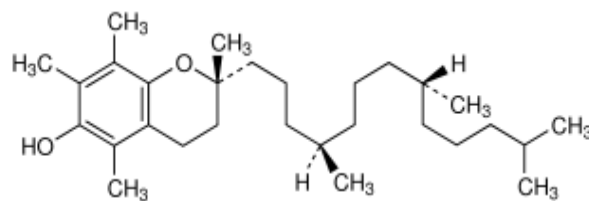
Peningkatan radikal bebas secara umum menyebabkan gangguan fungsi sel dan kerusakan oksidatif pada membran. Pada kondisi tertentu antioksidan mempertahankan sistem perlindungan tubuh melalui efek penghambat pembentukan radikal bebas. Efisiensi mekanisme pertahanan tersebut mengalami perubahan pada diabetes mellitus. Penangkapan radikal bebas yang tidak efektif

dapat menyebabkan kerusakan jaringan (Rajasekaran dkk., 2005; Kaleem dkk., 2006).

3. Vitamin E (Alfa Tocoferol, $C_{29}H_{50}O_2$)

Vitamin E merupakan antioksidan yang cukup kuat dan dapat melindungi sel-sel membran serta LDL (*Low Density Lipoprotein*) kolesterol dari kerusakan radikal bebas. Selain itu vitamin E juga dapat membantu memperlambat proses penuaan arteri dan melindungi tubuh dari kerusakan sel-sel yang akan menyebabkan penyakit kanker, penyakit hati, dan katarak. Vitamin ini bekerja sama dengan antioksidan lain seperti vitamin C untuk mencegah penyakit-penyakit kronik lainnya (Hernani dan Rahardjo, 2004).

Dosis : untuk prevensi dewasa 60-75 mg sehari, dosis alternatif sebagai antioksidan 400-600 mg/hari. Kebutuhan sehari-hari diperkirakan 12-15 mg dan meningkat bila diet banyak mengandung linolat (di atas 20 g). Persediaan tubuh lebih kurang 3-8 g dan tertimbun dalam jaringan lemak (Tjay dan Rahardja, 2007).



Gambar 1. Rumus Bangun Vitamin E (Arthur, 2000)

4. Radikal Bebas

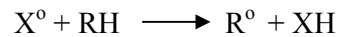
Radikal bebas merupakan sekelompok zat kimia yang sangat reaktif karena memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan (Fessenden dan Fessenden, 1994). Radikal bebas ini memegang peranan esensial misalnya pada regulasi tekanan darah, pencegahan infeksi kuman, dan eliminasi zat-zat asing. Pembentukan radikal bebas dalam tubuh pada hakikatnya adalah suatu hal yang normal, yang dibentuk secara kontinu karena dibutuhkan untuk proses tertentu, antara lain oksidasi lipida. Misalnya radikal bebas berperan penting pada ketahanan terhadap jasad renik. Dalam hati dibentuk radikal bebas secara enzimatis dengan maksud memanfaatkan tosisitasnya untuk merombak obat-obat dan zat-zat asing beracun lainnya (Tjay dan Rahardja, 2007). Efek dari radikal bebas dapat dicegah dengan asupan antioksidan yang cukup (Soetedjo, 2009).

Senyawa yang terkandung dalam sayur-sayuran dan buah-buahan memiliki efek yang menguntungkan karena mampu menangkap radikal bebas. Banyak senyawa fenolik yang diketahui memiliki aktivitas antioksidan dan dapat membantu melindungi sel-sel melawan kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas (Chun dkk., 2003). Ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan berpotensi menyebabkan kerusakan yang disebut stres oksidatif. Stres oksidatif menggambarkan banyaknya ROS pada proses oksidasi, sehingga menyebabkan gagalnya pertahanan kapasitas antioksidan tubuh terhadap produksi ROS yang berlebih (Soetedjo, 2009). Reaksi perusakan oleh radikal bebas antara lain:

a. Peroksida lipid

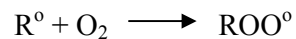
Peroksida lipid merupakan reaksi berantai yang terus menghasilkan pasokan radikal bebas sehingga terjadi reaksi-reaksi peroksidasi berikutnya. Keseluruhan proses tersebut dapat digambarkan sebagai berikut:

1. Inisiasi



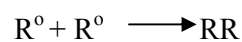
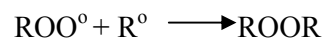
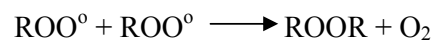
Pada tahap ini dengan adanya oksigen bebas akan terjadi pengambilan atom H dari *Poly Unsaturated Fatty Acid* (PUFA) yang terdapat pada membran sel sehingga menyebabkan kerusakan pada sel.

2. Propagasi



Hasil dari reaksi ini akan menjadi inisiator baru untuk bereaksi dengan PUFA yang lain sehingga menghasilkan produk radikal baru.

3. Terminasi



Tahap ini mengkombinasikan dua radikal menjadi suatu produk non radikal (Murray dkk., 2000).

b. Kerusakan Protein

Protein dan asam nukleat lebih tahan terhadap radikal bebas daripada PUFA, sehingga kecil kemungkinan dalam terjadinya reaksi berantai lebih cepat. Serangan radikal bebas terhadap protein sangat jarang kecuali bila sangat

ekstensif. Hal ini terjadi hanya jika radikal tersebut mampu berakumulasi (jarang pada sel normal), atau bila kerusakannya terfokus pada daerah tertentu dalam protein. Salah satu penyebab kerusakan terfokus adalah jika protein berikatan dengan ion logam transisi.

c. Kerusakan DNA

Bila radikal bebas sempat bertemu dengan enzim atau asam lemak tak jenuh ganda, maka awal kerusakan sel antara lain kerusakan peroksida lipid, kerusakan DNA, kerusakan membran sel pada jaringan tubuh, kerusakan protein, penuaan dini, dan dapat menimbulkan autoimun (Josephy, 1997; Haryatmi, 2004).

5. Antioksidan

Antioksidan adalah suatu senyawa yang dapat menetralkan, melawan bahan toksik (radikal bebas) dan menghambat terjadinya oksidasi pada sel sehingga mengurangi terjadinya kerusakan sel (Simanjuntak dkk., 2004). Menurut Pokorni dkk. (2001), antioksidan adalah senyawa yang mampu menunda, memperlambat atau menghambat reaksi oksidasi yang dapat mengakibatkan ketengikan (*rancidity*) pada makanan maupun kerusakan (degradasi) pada obat.

Berdasarkan sumbernya antioksidan dibagi dalam dua kelompok, yaitu antioksidan sintetik (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia) dan antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alami). Diantara beberapa contoh antioksidan sintetik yang diijinkan untuk makanan, ada lima antioksidan yang penggunaannya meluas dan menyebar di seluruh dunia, yaitu BHA (*Butylated Hydroxy Aniline*), BHT (*Butylated Hydroxy Toluene*), propil galat,

Tert-Butil Hydroxy Quinone (TBHQ), dan tokoferol. Antioksidan tersebut merupakan antioksidan alami yang telah diproduksi secara sintesis untuk tujuan komersial (Pokorni dkk., 2001).

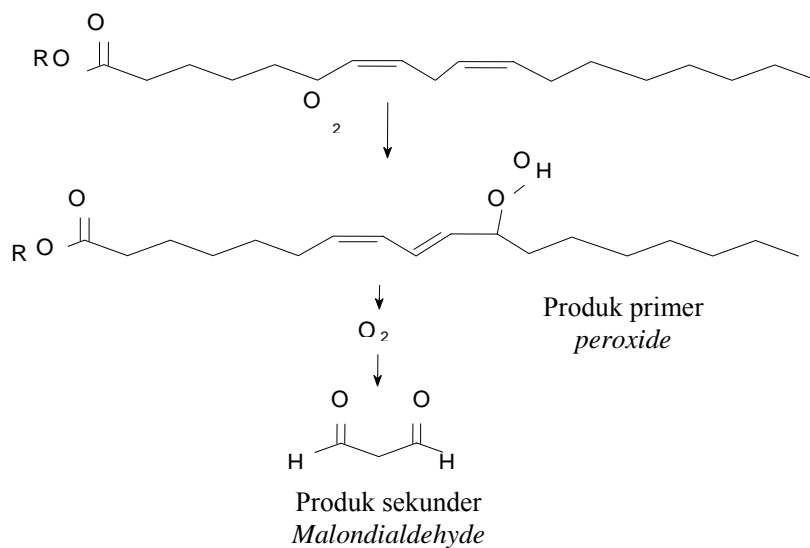
Antioksidan dari tumbuhan dapat menghalangi kerusakan oksidatif melalui reduksi dengan radikal bebas, membentuk kelat dengan senyawa logam katalitik, dan menangkap oksigen (Khlifi dkk., 2005). Senyawa antioksidan alami tumbuhan umumnya adalah senyawa fenolik atau polifenolik yang dapat berupa golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, tokoferol, dan asam-asam organik polifungsional. Golongan flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan meliputi flavon, flavonol, isoflavon, kateksin, flavonol, dan kalkon. Senyawa antioksidan polifenolik diantaranya dapat bereaksi sebagai penangkap radikal bebas (Chun dkk., 2003).

6. Malondialdehid (MDA)

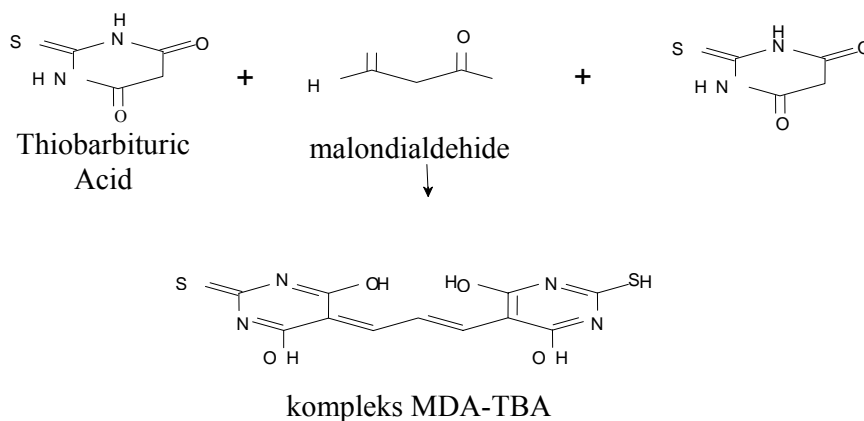
MDA terbentuk dari peroksidasi lipid (*lipid peroxidation*) pada membran sel yaitu reaksi radikal bebas (radikal hidroksi) dengan *Poly Unsaturated Fatty Acid* (PUFA). Reaksi tersebut terjadi secara berantai, akibat akhir dari reaksi rantai tersebut akan terbentuk hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida tersebut dapat menyebabkan dekomposisi beberapa produk aldehid yang bersifat toksik terhadap sel dan berbeda panjang rantainya, antara lain MDA, yang merupakan salah satu aldehid utama yang terbentuk (Edyson, 2003) (Gambar 2).

Pengukuran kinetika peroksidasi lipid secara *in vitro* dapat dilakukan dengan mengukur berapa banyak oksigen yang dibutuhkan. Ada beberapa metode

yang dapat digunakan, salah satunya *TBA (Thiobarbituric Acid) reactivity test*, yang dapat dilakukan baik secara *in vivo* maupun *in vitro*. Tes ini didasarkan pada reaksi kondensasi antara satu molekul MDA dengan dua molekul TBA pada kondisi asam. Hasilnya adalah pigmen berwarna merah yang dapat diukur pada panjang gelombang 532 nm (Gambar 3). Jumlah MDA yang terdeteksi menggambarkan banyaknya peroksidasi lipid yang terjadi (Josephy, 1997).



Gambar 2. Mekanisme Peroksidasi PUFA



Gambar 3. Reaksi Pembentukan Senyawa Kompleks MDA-TBA Berwarna Merah Muda yang Dapat Diukur Serapannya pada Panjang Gelombang 520 nm

7. Ekstraksi dan Penyarian

Ekstraksi atau penyarian merupakan peristiwa perpindahan massa aktif yang semula berada dalam tanaman ditarik oleh cairan penyari sehingga zat aktif larut dalam cairan hayati. Pada umumnya penyarian akan bertambah baik bila permukaan serbuk siplisia yang bersentuhan dengan penyari semakin luas. Cairan penyari yang digunakan dalam ekstraksi dipilih berdasarkan kemampuannya melarutkan jumlah yang maksimum dari zat aktif dan seminimum mungkin unsur yang tidak diinginkan (Ansel, 1989).

Metode pembuatan ekstrak yang umum digunakan antara lain maserasi, perkolasi, dan soxhletasi. Metode ekstraksi dipilih berdasarkan beberapa faktor seperti sifat dari bahan mentah obat, dan daya penyesuaian dengan tiap macam metode ekstraksi dan kepentingan dalam memperoleh ekstrak yang sempurna (Ansel, 1989). Hasil penyarian berupa ekstrak. Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan cara mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Anonim, 1986).

Fraaksinasi adalah prosedur pemisahan yang bertujuan memisahkan golongan utama kandungan yang satu dari golongan utama yang lain. Pemisahan jumlah dan jenis senyawa menjadi fraksi yang berbeda sudah tentu berbeda yang terkandung pada jenis tumbuhan. Senyawa-senyawa yang bersifat polar akan masuk ke pelarut polar, begitu pula senyawa yang bersifat non polar akan masuk ke pelarut non polar (Harborne, 1987).

Istilah maserasi berasal dari bahasa latin *macerare* yang artinya merendam, merupakan proses paling tepat untuk obat yang sudah halus dimungkinkan untuk direndam dalam menstrum sampai meresap dan melunakkan susunan sel sehingga zat yang mudah larut akan melarut (Ansel, 1989).

Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan yang terpekat didesak ke luar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel. Cairan penyari yang biasa digunakan adalah air, etanol, air-etanol atau pelarut lain (Anonim, 1986).

Maserasi dapat juga dilakukan dengan mencampur 10 bagian simplisia dengan derajat halus yang cocok dimasukkan ke dalam bejana kemudian dituang dengan 75 bagian cairan penyari, ditutup, dan didiamkan selama 5 hari, terlindung dari cahaya, sambil berulang-ulang diaduk, sari atau maserat diserakai, ampas diperas lalu ampas dicuci dengan cairan penyari secukupnya hingga diperoleh 100 bagian (Anonim, 1986).

F. LANDASAN TEORI

Beberapa jalur mekanisme peningkatan stres oksidatif akibat kadar gula yang meningkat yaitu jalur poliol pada saraf perifer, jalur peningkatan produksi *Advanced Glycation End products* (AGEs), jalur aktivasi protein kinase C (PKC),

jalur *hexosamine pathway flux* akibat modifikasi berlebihan dari protein oleh N-asetilglukosamin (Adi, 2009), autooksidasi glukosa pada diabetes melitus (Setiawan dan Suhartono, 2005), dan fosforilasi oksidatif (Robertson, 2004). Pada tikus yang dibebani glukosa terjadi peningkatan kadar *malondialdehyd* (MDA) dengan penurunan kativitas antioksidan (Algameta, 2009). Penggunaan antioksidan pada pengobatan diabetes mellitus berguna untuk pencegahan komplikasi diabetes akibat peroksidasi lipid (Kaleem dkk., 2006).

Penelitian yang dilakukan oleh Yadav dkk. (2008) menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun jambu biji dosis 200 mg/kgBB efektif menurunkan kadar glukosa darah pada tikus yang diinduksi aloksan, serta pemberian ekstrak etanol daun jambu biji dosis 10 mg/kg secara intraperitoneal dapat menurunkan kadar glukosa darah pada tikus yang berumur 1 dan 3 bulan (Oh dkk., 2005). Penelitian Ojewole (2005) menunjukkan bahwa pemberian ekstrak air daun jambu biji dosis 50-800 mg/kgBB signifikan ($p < 0,05$) memberikan efek hipoglikemik pada tikus normal dan diabetes yang diinduksi streptozotosin.

Penelitian yang dilakukan oleh Tachakittirungrod^a dkk. (2007), menunjukkan bahwa tiga flavonoid aktif dari ekstrak metanol daun jambu biji yang tumbuh di Thailand yaitu kuersetin, kuersetin-3-*O*-glukopiranosid dan morin, memiliki aktivitas sebagai agen penangkap radikal bebas dengan IC_{50} $1,20 \pm 0,02$, $3,58 \pm 0,05$ dan $5,41 \pm 0,20$ $\mu\text{g/ml}$. Penelitian Tachakittirungrod^b dkk. (2007) membuktikan bahwa kandungan fenol dalam fraksi metanol memiliki aktivitas antioksidan paling tinggi, kemudian diikuti fraksi butanol dan etil asetat daun jambu biji yang diuji menggunakan tes ABTS dan FRAP. Penelitian

Susilawati (2008), menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun jambu biji dosis 5,407 mg/kgBB tikus selama 6 hari menunjukkan efek pencegahan terhadap peningkatan kadar MDA plasma akibat latihan olahraga.

G. Hipotesis

1. Pembebanan glukosa dapat meningkatkan kadar MDA
2. Berdasarkan kandungan senyawa flavonoid pada daun jambu biji, pemberian fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji memiliki aktivitas sebagai antioksidan pada kelinci yang dibebani glukosa.