

**EFEK ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN JAMBU
BIJI (*Psidium guajava* L.) PADA KELINCI YANG DIBEKANI
GLUKOSA**

SKRIPSI



Oleh :

**AGUS PURBOYO
K 100 020 150**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
SURAKARTA
2009**

BAB I

PENDAHULUAN

A. LATAR BELAKANG MASALAH

Radikal bebas adalah atom atau senyawa yang kehilangan pasangan elektronnya. Sebagai contoh, atom oksigen (O_2) yang normal mempunyai 4 (empat) pasang elektron. Proses metabolisme sehari-hari yang merupakan proses biokimia yang menyebabkan terbentuknya radikal bebas yang bersifat sementara karena dengan cepat diubah menjadi senyawa yang tidak berbahaya bagi tubuh (Kumalaningsih, 2008). Reaksi pembentukan radikal bebas merupakan mekanisme biokimia tubuh normal yang lazimnya hanya bersifat perantara dan bisa dengan cepat diubah menjadi substansi yang tidak lagi membahayakan tubuh (Karyadi, 1997).

Radikal bebas yang melebihi batas kemampuan proteksi antioksidan seluler, maka akan menyerang sel (Sauriasari, 2006). Apabila radikal bebas bertemu dengan enzim atau asam lemak tak jenuh ganda, maka akan menjadi awal dari kerusakan sel yaitu kerusakan DNA (*deoxynucleic acid*) pada inti sel, kerusakan membran sel-sel pada jaringan tubuh, kerusakan lipid peroksida, penuaan dini, dan dapat menimbulkan autoimun (Karyadi, 1997).

Pada penderita diabetes melitus, meningkatnya kadar glukosa dalam darah disebabkan oleh kerusakan pankreas sehingga tidak dapat menghasilkan insulin, kerusakan pankreas ini dapat disebabkan oleh senyawa radikal bebas yang merusak sel-sel pada pankreas sehingga tidak dapat berfungsi (Studiawan, 2004).

Pada penderita diabetes juga terjadi peningkatan stress oksidatif yang menginduksi perubahan jaringan dan aktivitas enzim antioksidan. Stress oksidatif ini bertanggung jawab dalam komplikasi diabetes mellitus (Mahdi *et al.*, 2003).

Peningkatan MDA terjadi akibat proses autooksidasi glukosa (penghambatan sekresi insulin karena senyawa oksigen reaktif), aktivasi protein kinase C (penurunan respon otot polos pada pembuluh darah), pembentukan metilglioksal dan glikasi, metabolisme heksosamin (meningkatkan produksi hidrogen peroksidasi dan menyebabkan resistensi insulin), pembentukan jalur poliol-sorbitol (saat keadaan normal konsentrasi sorbitol dalam sel rendah), dan fosforilasi oksidatif (Robertson, 2004). Jalur poliol–sorbitol merupakan jalur alternatif metabolisme glukosa. Pada keadaan normal, sebagian besar glukosa seluler mengalami fosforilasi menjadi glukosa-6-fosfat oleh enzim heksokinase. Bagian kecil dari glukosa yang tidak mengalami fosforilasi memasuki jalur poliol, yakni jalur alternatif metabolisme glukosa. Melalui jalur ini, glukosa dalam sel dapat diubah menjadi sorbitol dengan bantuan enzim aldose reduktase (Nishimura, 1998).

Dalam keadaan normal, konsentrasi sorbitol di dalam sel rendah, tetapi berbeda pada keadaan hiperglikemik, dimana konsentrasi sorbitol akan meningkat. Sorbitol dengan bantuan enzim sorbitol dehidrogenase (SDH), akan diubah menjadi fruktosa. Degradasi sorbitol ini berjalan lambat sehingga sorbitol menumpuk dalam sel, sehingga dapat menyebabkan peningkatan tekanan osmotik dan selanjutnya dapat merusak sel sehingga kadar MDA meningkat (Chung *et al.*, 2003).

Menurut Indriarini (2009) pengujian dengan metode tiosianat dan metode asam tiobarbiturik (TBA), diketahui ekstrak etanol daun jambu biji mempunyai potensi antioksidan paling baik adalah daun jambu biji putih lokal yang diekstraksi dengan etanol 70 % secara maserasi, dimana ekstrak tersebut mempunyai faktor protektif mendekati vitamin E. Pada penelitian Mahdi (2003) terjadi penurunan aktivitas antioksidan pada tikus diabetes yang diinduksi streptozozin ditunjukkan dengan adanya peningkatan MDA (Mahdi *et al.*,2003).

Belum diketahui apakah pembebanan glukosa pada kelinci dapat meningkatkan kadar MDA dan bagaimana pengaruh ekstrak etanol daun jambu biji dalam menurunkan kadar MDA.

B. PERUMUSAN MASALAH

Berdasarkan uraian tersebut di atas, maka penelitian ini merumuskan suatu permasalahan, yaitu:

1. Apakah terjadi peningkatan kadar MDA pada kelinci jantan yang dibebani glukosa?
2. Bagaimana pengaruh ekstrak etanol daun jambu biji terhadap penurunan kadar MDA pada kelinci jantan yang dibebani glukosa?

C. TUJUAN PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan untuk membuktikan :

1. Pengaruh pembebanan glukosa terhadap peningkatan kadar MDA terhadap pada kelinci jantan.
2. Pengaruh pemberian ekstrak etanol daun jambu biji terhadap penurunan kadar MDA pada kelinci jantan yang dibebani glukosa.

D. TINJAUAN PUSTAKA

1. Tanaman jambu biji (*Psidium guajava* L.)

a. Sistematika

Divisi : Spermatophyta

Subdivisi : Angiospermae

Kelas : Dicotyledonae

Bangsa : Myrtales

Keluarga : Myrtaceae

Marga : *Psidium*

Varietas : *Psidium guajava* L. (Van Steenis, 2003)

b. Nama lain

Indonesia mempunyai banyak tanaman yang bisa dimanfaatkan. Salah satunya adalah tanaman jambu biji yang mempunyai banyak nama lain di tempat yang berbeda pula, misalnya di daerah Sumatera : *glima breueh* (Aceh), *glimeu*

beru (Gayo), *galiman* (Batak Karo), *masiambu* (Nias), *biawas*, *jambu biawas*, *jambu biji*, *jambu batu*, *jambu klutuk* (Melayu); Jawa : *jambu klutuk* (Sunda), *bayawas*, *jambu krutuk*, *jambu krikil*, *petokal* (Jawa tengah), *jambu bhender* (Madura); Nusa Tenggara : *sotong* (Bali), *guawa* (Flores), *goihawas* (Sika); Sulawesi : *gayawas* (Manado), *boyawat* (Mongondow), *koyawas* (Tonsaw), *dambu* (Gorontalo), *jambu paratugala* (Makasar), *jambu paratukala* (Bugis), *jambu* (Baree), *kujabas* (Roti), *biabuto* (Buol); Maluku : *kayawase* (Seram Barat), *kujawase* (Seram Selatan), *laine hatu*, *luhu hatu* (Ambon), *gayawa* (Ternate, Halmahera) (Dalimartha, 2003).

c. Morfologi tanaman

Tanaman jambu biji termasuk tanaman perdu (tinggi dapat mencapai 10 meter) yang cepat beradaptasi dengan lingkungan dan memiliki daya regenerasi yang baik. Jambu biji dapat tumbuh di segala macam iklim dan lahan pada ketinggian antara 5-1200 meter dari permukaan laut.

d. Kandungan kimia

Buah jambu biji mengandung berbagai zat yang berfungsi sebagai penghambat berbagai jenis penyakit, diantaranya jenis flavonoid, tanin, minyak atsiri, dan juga terdapat saponin (Dweck, 2001), senyawa polifenol (kuersetin, avikularin, guajaverin, leukosianidin, asam elagat, asam psidiolat amritosid, zat samak, pirogalol) (Sudarsono dkk., 1996).

2. Diabetes Melitus

Penyakit gula didefinisikan sebagai kumpulan 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).

a. Patofisiologi Diabetes Mellitus

Diabetes mellitus adalah penyakit yang disebabkan menurunnya hormon insulin yang diproduksi oleh kelenjar pankreas, penurunan hormon ini meningkatkan glukosa dalam darah yang dikonsumsi di dalam tubuh. Polisakarida, oligosakarida, disakarida, dan monosakarida merupakan sumber tenaga yang menunjang keseluruhan aktivitas manusia. Seluruh glukosa ini akan diproses menjadi tenaga oleh hormon insulin tersebut. Karenanya penderita diabetes mellitus biasanya akan mengalami lesu, kurang tenaga, selalu merasa haus, sering buang air kecil, dan penglihatan kabur. Gejala lain akibat adanya kadar glukosa yang terlalu tinggi akan terjadi ateroma sebagai penyebab awal penyakit jantung koroner (Utami, 2003).

Klasifikasi diabetes mellitus, yaitu:

1). Diabetes mellitus tipe I (*Insulin Dependent Diabetes Melitus/ IDDM*)

IDDM umumnya timbul pada usia muda kurang dari 40 tahun. IDDM terjadi karena destruksi sel –sel pembuat insulin melalui mekanisme imunologik, sehingga menyebabkan hilangnya hampir seluruh insulin endogen. Penderita IDDM mengalami ketergantungan terhadap insulin eksogen untuk menurunkan

kadar glukosa plasma dan menghindari ketoasidosis serta untuk mempertahankan hidupnya (Woodley dan Whelan, 1995).

2). Diabetes melitus tipe II (*Non Insulin Dependent Diabetes Melitus/* NIDDM)

NIDDM biasanya timbul pada usia lebih dari 40 tahun. Tipe ini tidak tergantung insulin, hanya saja sel-sel beta pankreas mendapatkan rangsangan agar dapat menghasilkan insulin lebih banyak. Hal ini disebabkan karena adanya kelainan insulin sehingga tidak dapat bekerja sebagaimana mestinya (Woodley dan Whelan, 1995).

NIDDM atau diabetes tipe II adalah penyakit yang diturunkan. Bila salah seorang dari 2 saudara kembar menderita diabetes tipe II, maka kemungkinan bagi saudara kembarnya (dengan cara hidup yang sama) untuk menjadi pasien diabetes kira-kira 90%. Faktor keturunan yang menyebabkan diabetes tipe II ini sangat tersebar. Di dalam beberapa keluarga, hampir setiap anggota keluarga menjadi pasien diabetes bila mencapai usia lebih dari 40 atau 50 tahun (Soegondo dan Tanudjaja, 1994).

b. Hubungan antara Radikal Bebas dan Diabetes Mellitus

Penurunan hormon insulin mengakibatkan seluruh glukosa dalam darah yang dikonsumsi di dalam tubuh akan meningkat. Peningkatan kadar glukosa darah disebabkan oleh kerusakan pankreas yang tidak dapat menghasilkan insulin. Kerusakan pankreas ini dapat disebabkan oleh senyawa radikal bebas yang merusak sel-sel pada pankreas sehingga tidak dapat berfungsi (Studiawan, 2004).

Beberapa hipotesis menjelaskan tentang 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-acetylglucosamine* (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 fruktose. Proses ini membutuhkan NADPH, suatu kofaktor esensial dalam proses pembentukan antioksidan intraseluler. Akibat penurunan glutathione, jalur poliol ini meningkatkan stres oksidatif intraseluler dengan segala akibatnya (Brownlee, 2005).

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 (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 (Brownlee, 2005).

4). Jalur *hexosamine*

Pada kadar glukosa tinggi, fruktosa 6-fosfat melalui glutamine: fruktosa 6-fosfat aminotransferase (GFAT) akan membentuk glukosamin 6-fosfat (Nishimura, 1998).

5). Autooksidasi glukosa

Proses autooksidasi glukosa dikatalisis oleh senyawa logam dalam jumlah kecil seperti besi dan seng. Hasil katalisis tersebut adalah senyawa oksigen reaktif. 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 (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).

Radikal bebas bereaksi dengan biomembran menyebabkan destruksi oksidatif asam lemak tak jenuh membentuk *aldehyde* sitotoksik melalui peroksidasi lipid. Selanjutnya peroksidasi lipid diukur pada kondisi *thiobarbituric acid reactive substances* (TBARS) dan *lipid hydroperoxides* (HPX) yang merupakan produk akhir dari peroksidasi lipid. Peningkatan peroksidasi lipid pada membran dan lipoprotein terjadi pada penderita. HPX yang terbentuk dari peroksidasi lipid memiliki efek toksik langsung pada sel *endothelium* dan juga mendegradasi membentuk radikal hidroksil. Hal tersebut dapat terlihat pada sel β pankreas (Pari dan Latha., 2005).

3. Radikal Bebas

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbital luarnya. Hal ini mengakibatkan tidak stabilnya atom atau molekul tersebut. Serangan radikal bebas mengakibatkan kerusakan sel secara langsung, gangguan membran, metabolisme, dan fungsi gen (Oski, 1980; Harman, 1984).

Menurut Harman (1984), perubahan-perubahan yang diinduksi oleh radikal bebas meliputi perubahan-perubahan oksidatif yang bersifat kumulatif dari

molekul-molekul yang berumur panjang seperti kolagen dan pigmen penuaan. Perubahan sifat-sifat membran dari unsur-unsur sel seperti mitokondria dan lisosom, yang diakibatkan oleh lemak peroksida, fibrosis sistem pembuluh darah, dan penurunan aktivitas enzim (Harman, 1984).

Pada 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-acetylglucosamine* (Adi, 2009), autooksidasi glukosa pada diabetes melitus (Setiawan dan Suhartono, 2005), dan fosforilasi oksidatif (Robertson, 2004).

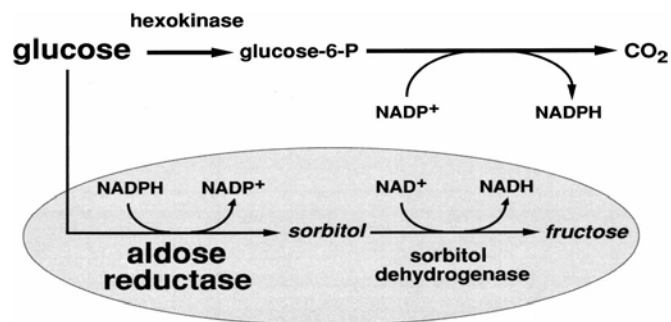
Peningkatan aktivitas PKC akan menurunkan respon penutupan sel otot polos pada pembuluh darah untuk menekan produksi hormon seperti angiotensin II dan arginin sehingga dapat meningkatkan aktivitas sodium-proton antiport yang meregulasi pH intraseluler, pertumbuhan dan diferensiasi sel (penyebab penyakit mikrovaskuler) (Nishimura, 1998).

Proses glikasi terjadi ketika perombakan gliseraldehid-3-fosfat akibat kadar glukosa yang berlebih gagal. Akumulasi gliseraldehid-3-fosfat dan dihidroksiaseton akan mendorong pembentukan metilglioksal (Robertson, 2004).

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).

Jalur poliol-sorbitol merupakan jalur alternatif metabolisme glukosa (Gambar 1). Pada keadaan normal, sebagian besar glukosa seluler mengalami fosforilasi menjadi glukosa-6-fosfat oleh enzim *heksokinase*. Bagian kecil dari glukosa yang tidak mengalami fosforilasi memasuki jalur poliol, yakni jalur alternatif metabolisme glukosa. Melalui jalur ini, glukosa dalam sel dapat diubah menjadi sorbitol dengan bantuan enzim aldose reduktase (Nishimura, 1998).

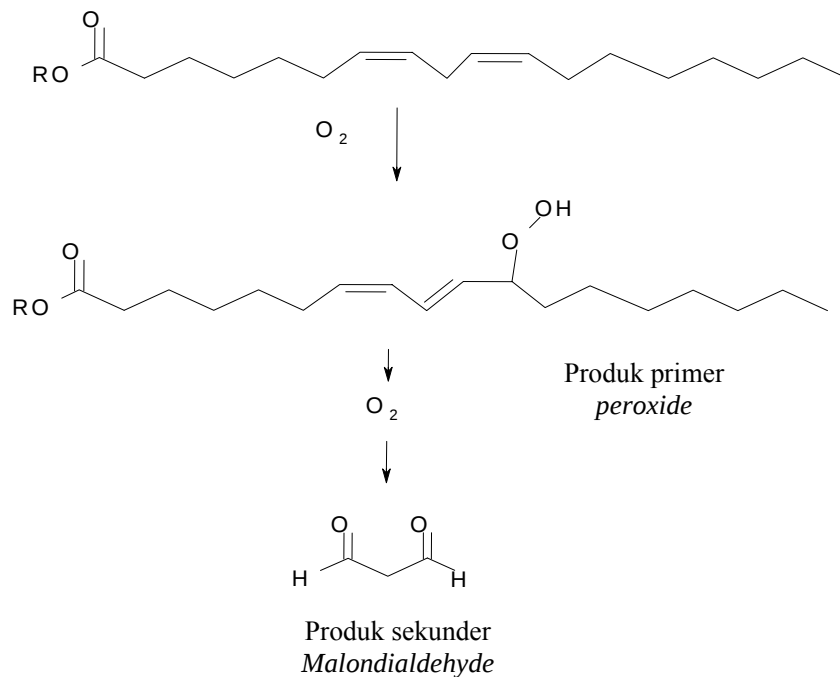
Dalam keadaan normal, konsentrasi sorbitol di dalam sel rendah, tetapi berbeda pada keadaan hiperglikemik, dimana konsentrasi sorbitol akan meningkat. Sorbitol dengan bantuan enzim sorbitol dehidrogenase (SDH), akan diubah menjadi fruktosa. Degradasi sorbitol ini berjalan lambat sehingga sorbitol menumpuk dalam sel, sehingga dapat menyebabkan peningkatan tekanan osmotik dan selanjutnya dapat merusak sel sehingga kadar MDA meningkat (Chung *et al.*, 2003).



Gambar 1. Metabolisme glukosa melalui jalur poliol – sorbitol

Hiperglikemik yang berlangsung lama dapat menyebabkan penderita diabetes melitus mudah mengalami stres oksidatif, yang merupakan suatu keadaan dimana produksi radikal bebas melebihi antioksidan (Anonim, 2003). Secara umum radikal bebas dapat masuk dan terbentuk di dalam tubuh melalui pernafasan, kondisi lingkungan yang tidak sehat dan makanan berlemak (Hernani

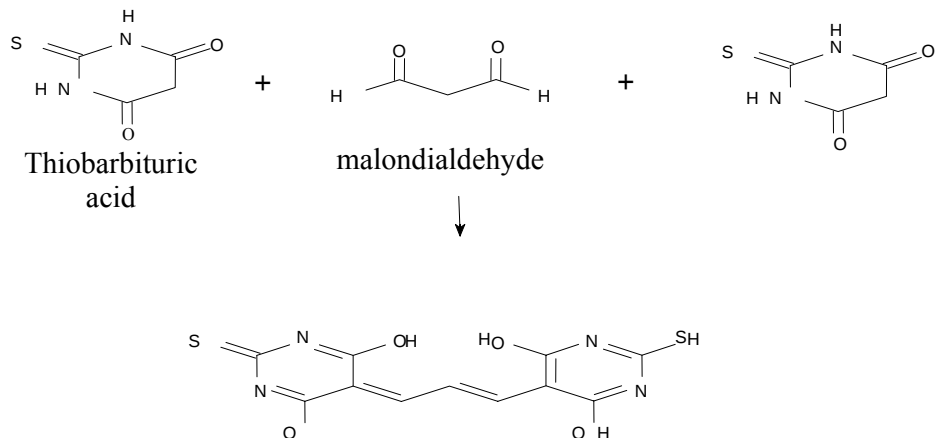
dan Rahardjo, 2005). Jaringan atau sel yang sangat rentan terhadap radikal bebas adalah eritrosit, leukosit/limfosit, fibroblas, sel tumor, endotel, liposome, dan mitokondria (Waspadji, 2000).



Gambar 2. Mekanisme Peroksidasi PUFA

Derajat peroksidasi lipid dapat ditunjukkan dengan kadar MDA yang merupakan produk akhir dari peroksidasi *Poly Unsaturated Fatty Acid* (PUFA) seperti pada Gambar 2. Pengukuran kinetika peroksidasi lipid secara *invitro* dapat dilakukan dengan mengukur berapa banyak oksigen yang dibutuhkan. Metode TBA (*Thiobarbituric Acid*) *reactivity test* dapat dilakukan baik secara *invivo* maupun *invitro*. 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).



Kompleks MDA-TBA Berwarna Merah Muda

Gambar 3. Reaksi Kondensasi antara Satu Molekul MDA Dengan Dua Molekul TBA pada Kondisi Asam

4. Malondialdehyde

Malondialdehid (MDA) merupakan lipid peroksida yang berasal dari radikal bebas yang dapat merusak membran sel. Apabila berlanjut mengakibatkan kerusakan sistem membran sel dan kematian sel (Baynes, 1991; Gitawati, 1995; Tjokprawiro, 1993).

5. Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menetralkan dan melawan bahan yang toksik (radikal bebas), serta menghambat terjadinya oksidasi sel sehingga kerusakan sel dapat dikurangi (Simanjuntak *et al.*, 2004). Radikal bebas yang merusak tubuh dapat dinetralkan oleh senyawa antioksidan. Senyawa-

senyawa yang tergabung dalam antioksidan ini akan menyerahkan satu atau lebih elektronnya kepada radikal bebas sehingga menjadi bentuk molekul yang normal kembali dan menghentikan berbagai kerusakan yang ditimbulkan (Caroline, 2005).

Tubuh manusia menghasilkan senyawa antioksidan, tetapi tidak cukup kuat untuk berkompetensi dengan radikal bebas yang dihasilkan setiap harinya oleh tubuh sendiri. Kekurangan antioksidan dalam tubuh membutuhkan asupan dari luar (Kumalaningsih, 2008). Terdapat tiga macam antioksidan yaitu pertama, antioksidan yang dibuat oleh tubuh yang berupa enzim antara lain superoksida dismutase, glutathione, peroksidase dan katalase. Kedua, antioksidan alami yang dapat diperoleh dari tanaman atau hewan, yaitu tokoferol, vitamin C, beta karoten, flavonoid dan senyawa fenolik. Ketiga, antioksidan sintetis, yang dibuat dari bahan-bahan kimia yaitu *Butylated Hydroxy Anisole* (BHA), *Butylated Hydroxy Toluene* (BHT), *Tert Butyl Hydroquinone* (TBHQ), *Propyl Gallate* (PG) yang ditambahkan pada makanan untuk mencegah kerusakan lemak (Kumalaningsih, 2008).

Pada tumbuhan terdapat senyawa antioksidan yang dapat menghalangi kerusakan oksidatif melalui reduksi dengan radikal bebas, membentuk kelat dengan senyawa logam katalitik, dan menangkap oksigen (Khlifi *et al.*, 2005). Kemampuan suatu senyawa dalam meredam radikal bebas merupakan ukuran aktivitas antioksidan. Berdasarkan fungsinya sistem antioksidan tubuh dalam melindungi jaringan terhadap efek negatif radikal bebas dapat dikelompokkan menjadi 5 macam yaitu pertama, antioksidan primer berfungsi mencegah

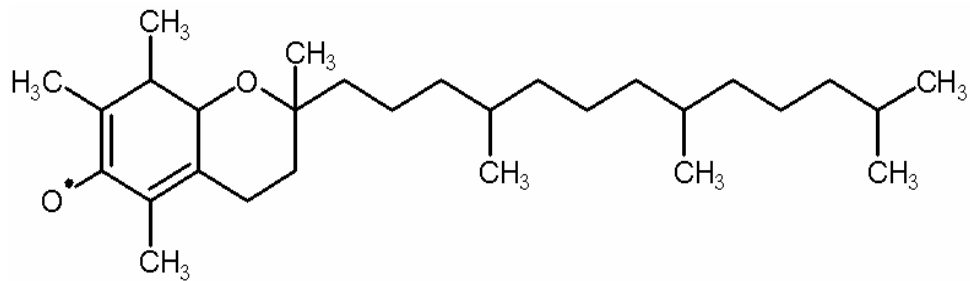
terbentuknya radikal bebas baru, contoh antioksidan primer yaitu enzim *superoksida dismutase* (SOD), *glutation peroksidase* (GPX), dan *katalase*. Kedua, antioksidan sekunder berfungsi menangkap radikal bebas serta mencegah terjadinya reaksi berantai. Contoh antioksidan sekunder yaitu vitamin C, vitamin E, dan beta *karoten*. Ketiga, antioksidan tersier berfungsi memperbaiki sel-sel dan jaringan yang rusak karena serangan radikal bebas. Contoh antioksidan tersier yaitu jenis enzim misalnya metionin sulfosida reduktase yang dapat memperbaiki DNA dalam inti sel. Keempat, *oxygen scavenger* berfungsi mengikat oksigen sehingga tidak mendukung reaksi oksidasi, misalnya vitamin C. Kelima, *chelators* atau *sequestants* bersifat mengikat logam yang mampu mengkatalisis reaksi oksidasi misalnya asam sitrat dan asam amino (Kumalaningsih, 2008).

6. Vitamin E

Vitamin E adalah bentuk dari alfa tokoferol ($C_{29}H_{50}O_2$). Termasuk *d*- atau *dl*-alfa tokoferol ($C_{29}H_{50}O_2$); *d*- atau *dl*-alfa tokoferol asetat ($C_{31}H_{52}O_3$); *d*- atau *dl*-alfa tokoferol asam suksinat ($C_{33}H_{54}O_5$). Bentuk alfa tokoferol dan alfa tokoferol asetat berupa minyak kental jernih, warna kuning atau kuning kehijauan seperti ditunjukkan pada Gambar 4 (Anonim, 1995).

Alfa tokoferol asam suksinat tidak larut dalam air, sukar larut dalam larutan alkali, larut dalam etanol, eter, aseton, dan dalam minyak nabati. Bentuk vitamin E lain tidak larut dalam air, larut dalam etanol dan dapat bercampur dengan eter, aseton, minyak nabati dan kloroform.

Vitamin E dalam membran sel memegang peranan khusus, yaitu pada perlindungan terhadap kerusakan otot selama gerakan tubuh dan olahraga. Paru-paru dilindungi terhadap oksidasi dan kerusakan radikal bebas oleh vitamin A, C, dan E oleh antioksidan enzimatis. Bila perlindungan kurang sempurna maka mungkin terjadi kerusakan pada epitel gelembung paru (Tjay dan Rahardja, 2007).



Gambar 4. Struktur Alfa Tokoferol (Anonim, 1995)

7. Ekstraksi Tanaman

Ekstraksi adalah peristiwa perpindahan massa zat aktif yang semula berada dalam tanaman ditarik oleh cairan penyari sehingga zat aktif larut dalam cairan hayati (Ansel, 1989). Pemilihan pelarut yang akan digunakan dalam ekstraksi berdasarkan kelarutan senyawa yang terkandung pada ekstrak (Ansel, 1989). Farmakope Indonesia menetapkan untuk proses penyari sebagai cairan penyari digunakan air, etanol, air-etanol, eter penyari pada pembuatan obat tradisional masih pada penggunaan air etanol atau air-etanol (Anonim, 1979).

Metode penyarian yang umum digunakan infundansi, maserasi, perkolasi, dan soxhletasi. Metode penyarian dipilih berdasarkan pada sifat bahan mentah obat, kepentingan dalam penggunaan metode. Infundansi adalah proses penyarian yang biasanya digunakan untuk menyari zat-zat aktif

yang terlarut dalam air pada bahan nabati (Anonim, 1986). Perkolasi merupakan proses penyarian serbuk simplisia dengan pelarut yang cocok dengan melewati secara perlahan melewati suatu kolom. Maserasi adalah proses penyarian dengan cara serbuk direndam sampai meresap yang akan melunakkan susunan sel, sehingga zat-zat yang mudah larut akan melarut (Ansel, 1989).

Maserasi umumnya dilakukan dengan merendam 10 bagian simplisia dengan derajat halus yang sesuai ke dalam suatu bejana. Kemudian dituangi 75 bagian pelarut, ditutup dan dibiarkan selama 5 hari. Selama keadaan tersebut harus dalam kondisi terlindung dari cahaya, dikocok berulang-ulang. Sari atau maserat tersebut diserkai sehingga didapat sari yang banyak (Anonim, 1986). Proses maserasi menggunakan etanol sebagai cairan pengekstraksinya, karena etanol tidak menyebabkan pembengkakan membran sel dan memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut. Selain itu etanol mampu mengendapkan albumin dan menghambat kerja enzim, penggunaan etanol sering menghasilkan bahan aktif yang optimal, dimana bahan pengotor hanya dalam skala kecil yang di dalam cairan pengekstraksi (Voigt, 1995).

E. LANDASAN TEORI

Menurut Arulselvan dan Subramanian (2007), stres oksidatif pada diabetes berdampingan dengan penurunan status antioksidan, yang dapat lebih meningkatkan efek radikal bebas. Sel beta dan sistem pertahanan antioksidan plasma yang rusak terjadi di pankreas.

Pada 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-acetylglucosamine* (Adi, 2009), autooksidasi glukosa pada diabetes melitus (Setiawan dan Suhartono, 2005), dan fosforilasi oksidatif (Robertson, 2004).

Penelitian Susilawati (2008), menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun jambu biji dosis 5,407 mg/200 gBB tikus selama 6 hari menunjukkan efek pencegahan terhadap peningkatan kadar MDA plasma akibat latihan olahraga. Menurut Indriarini (2009) diketahui bahwa ekstrak daun jambu biji yang mempunyai potensi antioksidan paling baik adalah daun jambu biji putih lokal yang diekstraksi dengan etanol 70 % secara maserasi, dimana ekstrak tersebut mempunyai faktor protektif mendekati vitamin E atau tokoferol, yaitu sebesar 1,10 sedangkan faktor protektif tokoferol sebesar 1,16. Pengujian antioksidan menggunakan metode TBA menunjukkan ekstrak etanol dari daun jambu biji putih lokal dapat menghambat oksidasi lipida sampai 94,19 % terhadap kontrol yang tidak diberi antioksidan.

F. HIPOTESIS

Pembebanan glukosa pada kelinci jantan diduga dapat meningkatkan kadar MDA plasma dalam darah. Ekstrak etanol daun jambu biji mempunyai aktivitas dapat menurunkan kadar MDA pada kelinci yang dibebani glukosa.