

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan dan bersifat sangat reaktif (Fessenden dan Fessenden, 1986). Senyawa radikal bebas seperti *reactive oxygen spesies* dalam tubuh dapat terbentuk dari proses metabolisme normal tubuh (seperti dari ksantin oksidase, mitokondria, inflamasi dan olahraga) atau karena pengaruh dari luar tubuh (misal asap rokok, polusi lingkungan maupun sinar ultraviolet) (Langseth, 1995). Radikal bebas dapat menyerang sel-sel dalam tubuh yang pada akhirnya dapat menyebabkan beberapa penyakit degeneratif seperti berbagai jenis kanker (Rohman dkk., 2006), aterosklerosis, hipertensi, iskemik, alzheimer, parkinson dan peradangan (Behera *et al.*, 2004).

Antioksidan adalah substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal, protein, dan lemak. Antioksidan memiliki kemampuan mendonorkan elektron untuk menstabilkan radikal bebas (Vaya dan Aviram, 2001).

Antioksidan dapat diproduksi dari dalam tubuh dan diperoleh dari luar tubuh. Antioksidan yang diproduksi di dalam tubuh (endogen) berupa tiga enzim, yaitu *superoksida dismutase (SOD)*, *glutathion peroksidase (GSH Px)*, katalase, serta non enzim (Huang *et al.*, 2005). Sedangkan dari luar tubuh, antioksidan

berasal dari makanan (Langseth, 1995). Tubuh perlu tambahan antioksidan dari luar karena jumlah antioksidan yang dihasilkan tubuh belum mampu menetralkan radikal bebas dalam tubuh (Hernani dan Rahardjo, 2006). Beberapa tanaman dan buah-buahan terbukti bermanfaat melindungi tubuh manusia terhadap bahaya radikal bebas karena bersifat antioksidan (Rohman dan Riyanto, 2006). Senyawa karoten, flavonoid dan komponen fenolik lain (Teow *et al.*, 2006), juga vitamin C dan E (Windono, 2001) merupakan senyawa antioksidan yang sering ditemukan dalam tanaman dan buah-buahan.

Buah durian (*Durio zibethinus* Murr) merupakan salah satu buah yang banyak dikonsumsi di Indonesia karena memiliki rasa yang lezat dan aroma yang khas. Penelitian ini merupakan upaya pemanfaatan kulit buah durian lokal yang cukup berlimpah di sekitar kita dan cenderung hanya berakhir sebagai limbah. Penelitian Fernando *et al.* (2008) menyebutkan bahwa durian jenis Mon Thong mempunyai kadar polifenol dan flavonoid total serta aktivitas antioksidan paling tinggi di antara durian jenis Chani, Kan Yao, Pung Manee dan Kradum. Penelitian Maria *et al.* (2007) menyebutkan bahwa kandungan fenolik yang paling banyak dapat diperoleh dari durian yang telah matang. Kandungan fenolik yang terdapat pada buah durian adalah apigenin, asam p-hidroksibenzoat, asam vanilat, asam kafeat, asam ferulat, asam anisat dan kuersetin (Poovarodom *et al.*, 2010). Oktavianingrum (2007) menyebutkan bahwa kulit durian mengandung minyak atsiri, flavonoid, saponin, unsur selulosa, lignin, serta kandungan pati. Penelitian ini dilakukan untuk menguji aktivitas antioksidan kulit buah durian dengan menggunakan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dalam bentuk ekstrak

maupun fraksi-fraksinya. Selain itu dilakukan pula penetapan kadar senyawa fenolik dan flavonoid total untuk mengetahui bagaimana korelasi antara kadar fenolik dan flavonoid total dengan aktivitas antioksidannya.

B. Perumusan Masalah

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

1. Apakah ekstrak etanol kulit buah durian (*Durio zibethinus* Murr) lokal dan fraksi-fraksinya memiliki aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH?
2. Berapakah kadar fenolik dan flavonoid total pada ekstrak etanol kulit buah durian (*Durio zibethinus* Murr) lokal dan fraksi-fraksinya dengan metode kolorimetri?
3. Bagaimanakah korelasi antara kadar fenolik dan flavonoid total terhadap aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol kulit buah durian (*Durio zibethinus* Murr) lokal dan fraksi-fraksi yang poten sebagai antioksidan?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. Menetapkan aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit buah durian (*Durio zibethinus* Murr) lokal dan fraksi-fraksinya dengan metode DPPH.

2. Menetapkan kadar fenolik dan flavonoid total pada ekstrak etanol kulit buah durian (*Durio zibethinus* Murr) lokal dan fraksi-fraksinya dengan metode kolorimetri.
3. Mengetahui korelasi antara kadar fenolik dan flavonoid total terhadap aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol kulit buah durian (*Durio zibethinus* Murr) lokal dan fraksi-fraksi yang poten sebagai antioksidan.

D. Tinjauan Pustaka

1. Tanaman Durian

a. Klasifikasi Tanaman

Urutan klasifikasi dari tanaman durian (*Durio zibethinus* Murr) adalah sebagai berikut:

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Anak kelas : Dilleniidae

Bangsa : Malvales

Suku : Bombacaceae

Marga : Durio

Jenis : *Durio zibethinus* Murr (Cronquist, 1981)

b. Morfologi Tanaman

Tanaman durian (Gambar 1) merupakan pohon tahunan, hijau abadi (pengguguran daun tidak tergantung musim) tetapi ada saat tertentu untuk menumbuhkan daun-daun baru (periode *flushing*). Durian dapat tumbuh mencapai

ketinggian 40 meter. Daun berbentuk lanset, berwarna hijau dengan sentuhan kuning, sisi bawah lebih pucat. Pohon durian mulai berbuah setelah 4-5 tahun, namun dalam budidaya dapat dipercepat karena menggunakan perbanyakan vegetatif. Bunga durian muncul dari kuncup dorman, berkelompok, mekar pada sore hari dan bertahan beberapa hari. Bunganya menyebarkan aroma wangi untuk menarik perhatian kelelawar sebagai penyerbuk utamanya. Buah durian berkembang setelah pembuahan dan memerlukan waktu 4-6 bulan untuk pemasakan. Hanya satu atau beberapa buah yang akan mencapai kemasakan dan sisanya gugur karena pada masa pemasakan terjadi persaingan antar buah pada satu kelompok. Berat buah durian (*Durio zibethinus*) pada umumnya dapat mencapai 1,5 hingga 5 kg.



Gambar 1. Foto buah dan kulit durian (*Durio zibethinus* Murr)

c. Kandungan Kimia

Buah durian mengandung vitamin B1, B2 dan vitamin C. Kulit buah durian mengandung minyak atsiri, flavonoid, saponin, unsur selulosa, lignin, serta 11 kandungan pati. Daunnya mengandung saponin, flavonoid dan polifenol, sedangkan akarnya mengandung tanin. Polifenol yang terdapat pada durian adalah

kuersetin, asam kafeat, apigenin, asam p-hidroksibenzoat, asam vanilat, asam ferulat, dan asam anisat (Poovarodom, *et al.*, 2010).

d. Manfaat Tanaman

Daun dan akar durian digunakan sebagai antipiretik dan daun durian yang dihancurkan dapat juga digunakan untuk pasien yang demam yaitu dengan cara diletakkan di atas dahi. Buah durian dapat dimanfaatkan sebagai suplemen makanan (Fernando, 2008), suplemen khusus bagi pasien hiperkolesterol dan diabetes melitus (Maria, 2007) dan sumber antioksidan alami bagi tubuh (Poovarodom, 2010). Bagi orang yang mempunyai tekanan darah tinggi dianjurkan agar menghindari buah durian karena dapat meningkatkan tekanan darah, sedangkan kulit durian dapat digunakan sebagai penolak nyamuk (Oktavianingrum, 2007). Penelitian tentang kulit durian sebagai antioksidan merupakan upaya pemanfaatan lebih lanjut dari durian yang memiliki potensi antioksidan yang baik bagi tubuh.

2. Radikal Bebas

Radikal bebas ialah senyawa kimia yang mempunyai satu atau lebih elektron tidak berpasangan dalam stukturanya sehingga tidak stabil dan sangat reaktif (Langseth, 1995). Sumber radikal bebas bisa berasal dari dalam tubuh kita sendiri (endogen), bisa pula dari luar tubuh (eksogen). Radikal endogen terbentuk akibat reduksi oksigen dalam mitokondria yang kurang sempurna, sehingga terbentuk superoksida, interaksi superoksida atau hidrogen peroksida dengan ion logam transisi. Sedangkan radikal bebas eksogen berasal dari polusi udara, radiasi, zat-zat kimia (obat-obatan, insektisida) dan makanan-makanan tertentu

(Windono *et al.*, 2001). Senyawa radikal bebas timbul akibat berbagai proses kimia kompleks dalam tubuh, metabolisme oksidatif mitokondria, atau ketika tubuh terpapar polusi lingkungan (Reynertson, 2007).

Radikal bebas berperan dalam terjadinya berbagai penyakit. Hal ini dikarenakan radikal bebas adalah spesi kimia yang memiliki pasangan elektron bebas di kulit terluar (Sofia, 2008) sehingga sangat reaktif dan mampu bereaksi dengan makromolekul sel, seperti: protein, lipid, karbohidrat, atau DNA (Langseth, 1995). Reaksi antara radikal bebas dan molekul itu berujung pada timbulnya suatu penyakit (Reynertson, 2007), yaitu antara lain:

1) Kerusakan DNA pada inti sel

Senyawa radikal bebas merupakan salah satu faktor penyebab kerusakan DNA disamping penyebab lain seperti virus, radiasi, dan zat kimia karsinogen. Bila kerusakan tidak terlalu parah, masih dapat diperbaiki oleh sistem perbaikan DNA. Namun bila sudah menyebabkan rantai DNA terputus di berbagai tempat, kerusakan ini tidak dapat diperbaiki lagi sehingga pembelahan sel akan terganggu bahkan terjadi perubahan abnormal yang mengenai gen tertentu dalam tubuh yang dapat menimbulkan penyakit kanker.

2) Kerusakan protein

Terjadinya kerusakan protein akibat serangan radikal bebas termasuk proses oksidasi protein yang mengakibatkan terjadinya kerusakan pada jaringan protein tersebut. Contohnya meningkatnya kadar *LDL (low density lipoprotein)* oleh oksigen reaktif dapat merusak dinding arteri yang menyebabkan aterosklerosis (Langseth, 1995).

3) Kerusakan lipid peroksida

Proses ini berlangsung bila radikal bebas menyerang lemak tak jenuh dalam tubuh sehingga terjadi peroksidasi yang menyebabkan munculnya penyakit seperti iskemia, aterosklerosis, *diabetes melitus*, dan penuaan kulit (Hafid, 2003).

4) Proses penuaan

Terjadi kerusakan jaringan disebabkan radikal bebas yang merupakan proses terjadinya penuaan, seperti kehilangan elastisitas jaringan kolagen dan otot sehingga kulit tampak keriput, terjadinya *lipofuchsin* atau bintik-bintik pigmen kecoklatan di kulit yang merupakan timbunan sisa pembakaran dalam sel.

3. Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang akan menghambat atau menunda proses oksidasi substrat pada konsentrasi yang rendah (Vaya dan Aviram, 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). Karakter utama senyawa antioksidan adalah kemampuannya untuk menangkap radikal bebas (Prakash *et al.*, 2007).

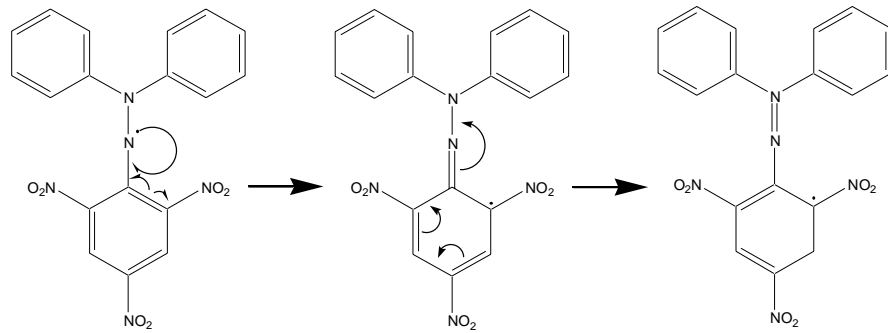
Menurut Pokorni (2001), antioksidan dapat menghambat atau memperlambat oksidasi melalui jalur penangkapan radikal bebas (*free radical scavenging*). Antioksidan jenis disebut sebagai antioksidan primer. Termasuk dalam jenis ini adalah senyawa-senyawa fenolik seperti vitamin E (alfa tokoferol) dan flavonoid. Selain itu, mekanisme kerja antioksidan melalui jalur tanpa melibatkan penangkapan radikal bebas. Antioksidan ini disebut dengan

antioksidan sekunder yang mekanismenya melalui pengikatan logam, menangkap oksigen, merubah hiperoksida menjadi spesies non radikal, menyerap sinar ultra violet dan mendeaktivasi oksigen singlet. Antioksidan sekunder, seperti asam sitrat asam askorbat dan esternya sering ditambahkan pada lemak dan minyak sebagai kombinasi dengan antioksidan primer. Kombinasi tersebut dapat memberi efek sinergis sehingga menambah keefektifan kerja antioksidan primer.

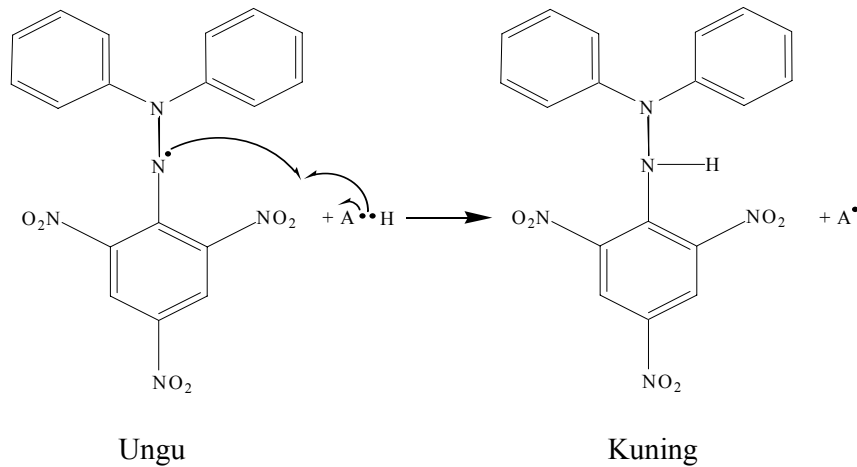
4. DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)

Uji DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) adalah suatu metode kolorimetri yang sederhana, cepat dan mudah untuk memperkirakan aktivitas antiradikal (Koleva *et al.*, 2001 cit Marxen *et al.*, 2007). Selain itu, metode ini terbukti akurat, reliabel dan praktis (Prakash *et al.*, 2007). Uji kimia ini secara luas dipergunakan dalam penelitian produk alami untuk isolasi antioksidan fitokimia dan untuk menguji seberapa besar kapasitas ekstrak dan senyawa murni dalam menyerap radikal bebas.

Radikal DPPH adalah suatu senyawa organik yang mengandung nitrogen tidak stabil dengan absorbansi kuat pada λ_{maks} 517 nm dan berwarna ungu gelap dengan $\epsilon = 1,05 \times 10^3$ L/mol cm (Reynertson, 2005; Abuin *et al.*, 2002). Senyawa ini bersifat tidak stabil karena memiliki satu elektron bebas tidak berpasangan yang mampu mengalami resonansi (Gambar 2) dan dapat berikatan dengan senyawa lainnya untuk mencapai kestabilan strukturnya. Setelah bereaksi dengan senyawa antioksidan, DPPH tersebut akan tereduksi dan warnanya akan berubah menjadi kuning (Gambar 3). Perubahan tersebut dapat diukur dengan spektrofotometer dan diplotkan terhadap konsentrasi (Reynertson, 2007).



Gambar 2. Resonansi pada Struktur DPPH (Windono *et al.*, 2001)



Gambar 3. Reaksi Radikal Bebas DPPH dengan Antioksidan (Windono *et al.*, 2001)

5. Ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan (Anonim, 1995). Metode ekstraksi yang cepat dan teliti diperlukan untuk mendapatkan senyawa yang khas (zat aktif) dalam suatu tumbuhan (Harborne, 1987). Pemilihan metode ekstraksi tergantung pada sumber bahan alami dan senyawa yang akan diisolasi tersebut (Sarker *et al.*, 2006). Kandungan kimia tumbuhan digolongkan

berdasarkan pada asal biosintesis, sifat kelarutan dan adanya gugus fungsi tertentu (Harborne, 1987). Oleh karena itu terdapat beberapa pilihan metode penyarian, antara lain: maserasi, *boiling*, sokletasi, *supercritical fluid extraction*, sublimasi, dan destilasi uap (Sarker *et al.*, 2006). Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi antara lain: pelarut untuk ekstraksi polar (air, etanol, metanol, dan sebagainya), pelarut untuk ekstraksi semi polar (etil asetat, diklormetana, dan sebagainya), dan pelarut untuk ekstraksi non polar (heksana, petroleum eter, kloroform, dan sebagainya) (Sarker *et al.*, 2006).

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi. Maserasi adalah cara ekstraksi yang paling sederhana. Bahan simplisia yang dihaluskan sesuai dengan syarat-syarat farmakope (umumnya terpotong-potong atau berupa serbuk kasar) disatukan dengan bahan pengekstraksi. Selanjutnya rendaman tersebut disimpan terlindung dari cahaya (mencegah reaksi yang dikatalisis cahaya atau perubahan warna) dan diaduk kembali. Waktu maserasi pada umumnya 5 hari. Setelah waktu tersebut, artinya keseimbangan antara bahan yang diekstraksi pada bagian dalam sel dengan yang masuk dalam cairan telah tercapai. Dengan pengadukan dijamin keseimbangan konsentrasi bahan lebih cepat dalam cairan. Keadaan diam selama maserasi menyebabkan turunnya perpindahan bahan aktif. Secara teoritis pada suatu maserasi tidak memungkinkan terjadinya ekstraksi absolut (Voight, 1994).

6. Fraksinasi

Fraksinasi merupakan prosedur pemisahan yang bertujuan memisahkan golongan utama kandungan yang satu dari kandungan yang lain. Senyawa yang

bersifat polar akan masuk ke pelarut polar dan senyawa non polar akan masuk ke pelarut non polar (Harborne, 1987). Mekanisme pemisahan dalam metode fraksinasi yang digunakan adalah partisi yakni analit akan terdistribusi diantara kedua pelarut sesuai dengan kelarutan relatif diantara keduanya (Gandjar dan Rohman, 2007).

E. Landasan Teori

Antioksidan merupakan senyawa yang akan menghambat atau menunda proses oksidasi substrat pada konsentrasi yang rendah (Vaya dan Aviram, 2001). Salah satu sumber antioksidan alami adalah buah-buahan seperti durian. Durian jenis Mon Thong diketahui memiliki kadar polifenol dan flavonoid total serta aktivitas antioksidan paling tinggi di antara durian jenis Chani, Kan Yao, Pung Manee dan Kradum (Fernando *et al.*, 2008). Penelitian Maria *et al.* (2007), menyebutkan kandungan fenolik yang paling banyak dapat diperoleh pada buah durian yang telah matang. Selain itu, Oktavianingrum dkk (2007) menyebutkan kulit durian mengandung minyak atsiri, flavonoid, saponin, unsur selulosa, lignin, serta kandungan pati. Zhang *et al.* (2006) memaparkan adanya aktivitas penangkap radikal dari ekstrak yang berkorelasi positif dengan kandungan senyawa fenolik dan sumbangan aktivitas dari senyawa flavonoidnya (Zhang, *et al.*, 2006). Semakin tinggi kadar senyawa fenolik dan flavonoid maka aktivitas penangkap radikalnya semakin meningkat.

F. Hipotesis

Berdasarkan uraian tersebut, dapat dirumuskan bahwa ekstrak etanol kulit buah durian (*Durio zibethinus* Murr) lokal dan fraksi-fraksinya memiliki aktivitas antioksidan dan terdapat kandungan senyawa fenolik dan flavonoid serta adanya korelasi positif antara aktivitas antioksidan dengan kadar fenolik dan flavonoid totalnya.