BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar belakang masalah

Pola hidup manusia yang tidak teratur menyebabkan tubuh kita membentuk radikal bebas yang dapat menyebabkan penyakit degeneratif seperti kanker, penyakit jantung, pembuluh darah dan *stroke*. Radikal bebas yang merusak tubuh ini dapat diikat oleh senyawa antioksidan, sehingga dapat mencegah penyakit tersebut (Werdhasari, 2014).

Ekstrak selada merah mengandung flavonoid, antosianin dan senyawa fenolik yang berkhasiat sebagai antioksidan, yang kandungannya lebih tinggi dibanding selada jenis lainnya (Gan dan Azrina, 2016). Selain flavonoid, selada merah juga mengandung saponin, polifenol, alkaloid (Depkes, 1994), vitamin C, vitamin A, vitamin E, vitamin K (Anonim, 2016). Selada *romaine* mempunyai aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} 4485, 41 ppm, selada *butterhead* 4230, 13 ppm, selada *iceberg* 3991, 67 ppm dan selada *green coral* 775, 55 ppm (Gan dan Azrina, 2016).

Antioksidan adalah zat kimia yang memberikan hidrogen radikal yang selanjutnya hidrogen radikal diikat oleh radikal bebas, sehingga berpasangan menjadi netral dan mencegah kerusakan sel (Potterat, 1997). Antioksidan berdasarkan sumber perolehannya ada dua macam antioksidan, yaitu antioksidan alami dan antioksidan buatan (sintetik). Antioksidan alami perlu dikembangkan karena adanya efek samping dari antioksidan sintetik yang jika digunakan terus menerus dapat menimbulkan efek samping yang berbahaya, salah satunya yaitu dapat meningkatkan terjadinya karsinogenik (Amarowiez dkk., 2000). Antioksidan

alami banyak ditemukan dalam sayuran dan buah - buahan. Komponen yang terkandung didalam antioksidan alami ini adalah vitamin C, vitamin E, vitamin A, β-karoten, glutation, bilirubin, albumin dan flavonoid (Winarsi, 2007).

Metode penarikan senyawa aktif dari selada merah menggunakan metode *freeze-dried* dengan hasil IC_{50} 303, 56 ppm menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat lemah. Sehingga, penarikan senyawa aktif pada penelitian ini menggunakan metode maserasi karena terjadinya kontak antara sampel dan pelarut cukup lama sehingga dapat memaksimalkan penarikan senyawa aktif serta menghindari rusaknya komponen senyawa aktif yang tidak tahan panas (Nurhasnawati, 2017). Metode maserasi dapat menghasilkan rendemen ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) lebih banyak yaitu 20,54% dibanding sokletasi 8,81% maupun Infudasi 14,94% (Wardatun *et al.*, 2017). Metode maserasi dalam menangkal radikal bebas lebih baik dibanding dengan metode perkolasi yaitu pada konsentrasi 50 ppm memiliki aktrivitas antioksidan 74, 61% sedangakan perkolasi 14, 28 % (Mokoginta, 2013).

Fraksi etil asetat digunakan bertujuan untuk menarik flavonoid yang bersifat semi polar. Fraksi etil asetat sebagai sumber antioksidan dapat menarik senyawa flavonoid dan nilai IC_{50} sebesar 56,45 mg/L pada ekstrak buah kemloko *(Phyllanthus emblica L.)* (Suzery dkk., 2013). Fraksi etil asetat juga dapat menarik senyawa flavonoid pada daun ekor kucing (*Acalypha hispida* Burm. F) (Febriyanti dkk., 2013).

Berdasarkan uraian diatas maka penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya aktivitas antioksidan dan menetapkan kadar flavonoid totalnya dalam fraksi etil asetat dari ekstrak etanol selada merah *(Lactuca sativa Var. chrispa).*

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka dapat dirumuskan beberapa masalah penelitian, sebagai berikut :

1. Apakah fraksi etil asetat ekstrak etanol selada merah *(Lactuca sativa Var. chrispa)* memiliki aktivitas antioksidan dan seberapa besar aktivitasnya?
2. Apakah fraksi etil asetat ekstrak etanol selada merah *(Lactuca sativa Var. chrispa)* mengandung flavonoid dan seberapa besar kadar flavonoid totalnya?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Mengetahui adanya aktivitas dan menentukan besarnya aktivitas antioksidan fraksi etil asetat ekstrak etanol selada merah *(Lactuca sativa Var. chrispa)*
2. Mengetahui adanya flavonoid dan menentukan kadar flavonoid total dalam fraksi etil asetat ekstrak etanol selada merah *(Lactuca sativa Var. chrispa)*

D. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat yaitu:

1. Memberikan informasi ilmiah mengenai fraksi etil asetat ekstrak etanol selada merah *(Lactuca sativa Var. chrispa)* yang memiliki aktivitas antioksidan alami.

2. Menambah ilmu pengetahuan tentang antioksidan dalam bidang kesehatan serta referensi bagi penelitian selanjutnya.

E. Tinjauan Pustaka

1. Radikal bebas

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang mempunyai elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya dan dapat berdiri sendiri (Clarkson dan Thompson, 2000). Kebanyakan radikal bebas bereaksi secara cepat dengan atom lain untuk mengisi orbital yang tidak berpasangan, sehingga radikal bebas normalnya berdiri sendiri hanya dalam periode waktu yang singkat sebelum menyatu dengan atom lain. Simbol untuk radikal bebas adalah sebuah titik yang berada didekat symbol atom (R•). ROS *(Reactive Oxygen Species)* adalah senyawa pengoksidasi turunan oksigen yang bersifat sangat reaktif yang terdiri atas kelompok radikal bebas dan kelompok non radikal. Kelompok radikal bebas antara lain *superoxide anion* ($O_2^{\bullet -}$) *hydroxyl radicals* (OH•), dan *peroxyl radicals* (RO_2•). Non radikal misalnya *hydrogen peroxide* (H_2O_2), dan *organic peroxides* (ROOH) (Halliwell dan Whiteman, 2004).

Radikal bebas dalam tubuh dapat terbentuk melalui proses metabolisme sel normal, peradangan, kekurangan gizi dan akibat respon terhadap pengaruh dari luar tubuh seperti asap rokok, polusi lingkungan, ultraviolet (UV) dan lain sebagainya (Winarsi, 2007)

Radikal bebas dapat mengoksidasi asam nukleat, protein, lemak, bahkan DNA sel yang menginisiasi timbulnya penyakit degeneratif

(Rohmatussolihat, 2009). Radikal bebas merupakan salah satu faktor penyebab berbagai macam penyakit degeneratif misalnya kanker, artheklerosis, neurodegeneratif dan inflamasi (Tapan, 2005).

Radikal bebas yang berlebih atau produksi antioksidan yang tidak mencukupi dapat menyebabkan kerusakan sel-sel jaringan dan enzim di dalam tubuh. Kerusakan jaringan terjadi akibat gangguan oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas asam lemak atau yang biasa dikenal sebagai peroksida lipid, kerusakan sel juga disebabkan oleh peroksidasi protein dan kerusakan DNA (Arief, 2007).

Oksidasi lemak terdiri dari tiga tahap utama yaitu, inisisasi, propagasi dan terminasi. Tahap inisasi terjadi pembentukan radikal asam lemak, yaitu senyawa turunan asam lemak yang bersifat tidak stabil dan sangat reaktif akibat dari hilangnya satu atom hidrogen. Tahap selanjutnya yaitu propagasi, radikal asam lemak akan bereaksi dengan dengan oksigen membentuk radikal peroksi. Radikal peroksida lebih lanjut akan menyerang asam lemak menghasilkan hidroperoksida dan asam radikal asam lemak baru. Tahap terminasi terjadi penggabungan radikal-radikal bebas membentuk produk non radikal yang stabil (Shahidi dan Wanasundara, 2002). Mekanisme oksidasi lemak stabil dapat dilihat pada Gambar 1.

Inisiasi	: RH	⟶	$R^* + H^*$
Propagasi	: $R^* + O_2$	⟶	ROO^*
	$ROO^* + RH$	⟶	$ROOH^* + R^*$
Terminasi	: $ROO^* + ROO^*$	⟶	$ROOR^* + O_2$
	$ROO^* + R^*$	⟶	ROOR
	$R^* + R^*$	⟶	RR

Gambar 1. Mekanisme Oksidasi Lemak Stabil (Shahidi dan Wanasundara, 2002)

2. Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat kerja radikal bebas dengan cara memberikan satu atau lebih elektronnya kepada radikal bebas sehingga menjadi bentuk molekul yang normal kembali dan menghentikan berbagai kerusakan yang dapat ditimbulkan. Penggunaan senyawa antioksidan berkembang seiring dengan semakin bertambahnya pengetahuan tentang aktivitas radikal bebas terhadap beberapa penyakit degeneratif seperti penyakit jantung dan penyakit kanker (Pokorny dkk., 2001).

Antioksidan dibedakan menjadi tiga jenis yaitu, antioksidan yang dibuat oleh tubuh kita sendiri yang berupa enzim-enzim, antioksidan alami yang diperoleh dari hewan dan tumbuhan dan antioksidan sintetik yang dibuat dari bahan-bahan kimia (Kumalaningsih, 2006).

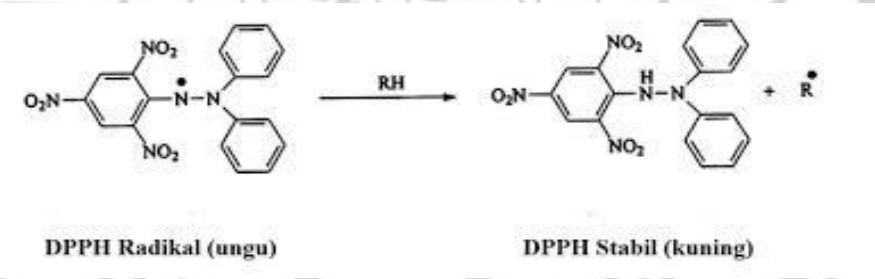
Antioksidan sintetik adalah antioksidan yang diperoleh dari hasil sintetik reaksi kimia. Senyawa fenol sintetis seperti Butil hidroksianisol (BHA) dan Butil hidroksitoluen (BHT) bukan antioksidan yang baik, sebab pada pemaparan yang lama dapat menyebabkan efek negatif terhadap kesehatan serta meningkatkan terjadinya karsinogenik (Ito dkk., 1986).

Senyawa antioksidan yang diisolasi dari sumber alami adalah berasal dari tumbuhan yaitu tokoferol, vitamin C, betakaroten, flavonoid dan senyawa fenolik. Isolasi antioksidan alami telah dilakukan dari tumbuhan yang dapat dimakan, tetapi tidak selalu dari bagian yang dapat dimakan. Antioksidan alami tersebar diberbagai bagian tanaman, seperti pada kayu,

kulit kayu, akar, daun, buah, bunga, biji dan serbuk sari (Pratt, 1992). 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 dan kalkon. Sementara turunan asam sinamat meliputi asam kafeat, asam ferulat, asam klorogenat dan lain-lain (Jitoe dkk.,1992). Aktivitas antioksidan yang dapat dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{abs\ kontrol - abs\ sampel}{abs\ kontrol} \text{ x } 100\%$$

Mekanisme reaksi senyawa antioksidan dengan DPPH dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Mekanisme Reaksi Senyawa Antioksidan dengan DPPH (Molyneux, 2004)

3. Selada merah

Selada yang dibudidayakan dan dikembangkan saat ini memiliki banyak varietas diantaranya yaitu selada kepala atau selada krop, Selada rapuh, Selada daun, dan Selada batang (Haryanto dkk., 2003).

a. Klasifikasi

Selada merah dalam sistematika tumbuhan diklasifikasikan sebagai berikut (Cahyono, 2005 ; Depkes, 1994) :

Kingdom : Plantae

Super Divisio : Spermathophyta

Divisio : Angiospermae

Class : Dicotyledonae

Ordo : Asterales

Familia : Asteraceae

Genus : Lactuca

Species : *Lactuca sativa* L.

Varietas : *Lactuca sativa Var.chrispa*

b. Morfologi

Selada merah yaitu memiliki daun berbentuk bulat Panjang, berukuran besar dengan panjang 20 cm – 25 cm dan lebar 15 cm atau lebih, bagian tepi daun bergerigi (keriting) dan daunnya berwarna merah keunguan (violet). Daun selada merah memiliki tangkai daun lebar dan tulang - tulang daun menyirip. Tangkai daun bersifat kuat dan halus. Daun bersifat renyah dan lunak apabila dimakan. Bunga tanaman selada merah berwarna kuning dan memiliki tangkai bunga yang panjang sampai dapat mencapai 80 cm atau lebih. Buah selada berbentuk polong yang berisi biji-biji yang berukuran sangat kecil dengan Panjang 4 mm dan lebar 1 mm. Biji tanaman selada merah

berbentuk pipih, agak keras, berwarna coklat tua, biji selada merupakan biji tertutup dan berkeping dua serta dapat digunakan untuk perbanyakan tanaman (Cahyono, 2005).

Tanaman selada merah memiliki batang sangat pendek dan hampir tidak terlihat, terletak pada bagian dasar tanaman serta berada di dalam tanah. Selada merah ada yang membentuk krop dan ada yang tidak membentuk krop. Selada merah yang tidak membentuk krop memiliki batang yang lebih panjang dan terlihat. Batang bersifat tegap dan kuat dengan ukuran diameter berkisar antara 2 cm – 3 cm. Sistem perakaran tanaman selada merah yaitu tunggang dan serabut. Akar serabut menempel pada batang, tumbuh menyebar kesemua arah pada kedalaman 20 cm-50 cm, sedangkan akar tunggangnya tumbuh lurus (Cahyono,2005). Tanaman selada merah *(Lactuca sativa Var. chrispa)* dapat dilihat pada Gambar 3.

Gambar 3. Tanaman Selada Merah *(Lactuca sativa Var. chrispa)* (Koleksi pribadi)

c. Kandungan kimia

Kandungan kimia selada merah *(Lactuca sativa Var. chrispa)* terdiri dari flavonoid, senyawa fenolik (Gan dan Azrina, 2016), saponin, polifenol, dan alkaloid (Depkes, 1994). Vitamin C, Vitamin A,

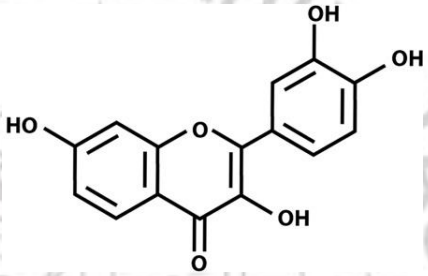
vitamin E, Vitamin K (Anonim, 2016). Flavonoid merupakan senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan (Winarsi, 2007).

Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang memiliki struktur inti C_6-C_3-C_6 yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan dengan 3 atom C, biasanya dengan ikatan atom O yang berupa ikatan oksigen heterosiklik (Markham,1988). Flavonoid yang banyak ditemukan dalam sayur - sayuran dan buah - buahan, dan dilaporkan sebagai antioksidan berpotensi lebih kuat dibandingkan dengan vitamin C dan E (Amic dkk., 2003 ; Winarsi, 2007). Flavonoid termasuk potensial sebagai antioksidan dan mempunyai bioaktifitas sebagai obat. Manfaat flavonoid antara lain adalah untuk melindungi struktur sel, meningkatkan efektivitas vitamin C, antiinflamasi, mencegah keropos tulang dan sebagai antibiotik (Marinova dan Batcharov, 2011).

Senyawa flavonoid mampu berperan sebagai antioksidan karena dapat berperan sebagai *free radical scavangers* yang mampu melepaskan atom hidrogen dari gugus hidroksilnya, dimana atom hidroksil tersebut akan berikatan dengan radikal bebas sehingga menjadi netral kembali. Flavonoid akan mengalami resonasi dan radikal bebas yang stabil menjadi bereaksi sehingga tidak merusak lipid, protein atau DNA (Harborne, 1987).

Kuersetin (3`,4`-dihidroksiflavonol) merupakan senyawa flavonoid dari kelompok flavonol yang terdapat dalam sayuran dan

buah - buahan yang memiliki sifat antioksidan yang potensial. Kuersetin bermanfaat sebagai perlindungan diri dari radikal bebas sehingga dapat menghambat penuaan dini. Kuersetin menunjukkan aktivitasnya dalam menghambat reaksi oksidasi *low-density lipoprotein* (LDL) secara *in vitro* (Kokasih, 2004), mencegah kerusakan oksidatif dan kematian sel dengan mekanisme menangkap radikal oksigen, memberikan efek farmakologi sebagai antiinflamasi (Herowaty, 2008). Struktur kimia kuersetin dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Struktur Kimia Kuersetin (Markham, 1988)

Tanaman yang memiliki kandungan utama kuersetin antara lain yaitu brokoli, teh hijau atau hitam, bawang merah (Formica dan Regelson, 1995).

d. Khasiat

Selada merah memiliki banyak manfaat antara lain dapat memperbaiki organ dalam, melancarkan metabolisme, membantu menjaga kesehatan rambut, mencegah kulit menjadi kering dan dapat mengobati insomia (Supriyati dan Herlina, 2014), obat pembersih darah, mengatasi batuk, radang kulit, dan gangguan wasir (Rubatzky dan Yamaguchi, 1997).

4. Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pemisahan suatu bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang didasarkan pada kelarutan komponen terhadap komponen lain dalam campuran (Depkes, 2000). Bahan yang akan diekstrak biasanya berupa bahan kering yang telah dihancurkan, biasanya berbentuk bubuk atau simplisia (Sembiring, 2007). Simplisia merupakan bahan alamiah yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan dan kecuali dikatakan lain berupa bahan yang telah dikeringkan (Depkes, 2000).

Proses pengekstraksian komponen kimia dalam sel tanaman yaitu pelarut organik akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dalam pelarut organik di luar sel, maka larutan terpekat akan berdifusi keluar sel dan proses ini akan berulang terus sampai terjadi keseimbangan antara konsentrasi cairan zat aktif di dalam dan di luar sel. Ekstraksi bertujuan untuk mendapatkan komponen-komponen bioaktif suatu bahan (Harborne, 1987).

Metode ekstraksi biasanya dipilih berdasarkan sifat dari bahan mentah obat dan daya penyesuaian dengan tiap macam metode ekstraksi serta kepentingan dalam memperoleh ekstrak yang sempurna atau bahkan mendekati sempurna dari bahan obat (Ansel, 1989). Salah satu metode ekstraksi adalah maserasi. Maserasi adalah perendaman simplisia menggunakan pelarut organik dengan beberapa kali pengadukan pada suhu

ruangan. Remaserasi adalah penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan pada maserat pertama dan seterusnya (Sudjadi, 2007).

Ekstrak yang didapat dari maserasi perlu dipisahkan dari pelarutnya dengan pemanasan dipercepat oleh putaran pada labu alas bulat dengan rotary evaporator, dengan bantuan pompa vakum, uap penyari akan menguap naik ke kondensor dan mengalami kondensasi menjadi molekul-molekul cairan pelarut murni yang akan ditampung dalam labu alat bulat penampung. Larutan penyari dapat menguap karena adanya perununan tekanan (Sudjadi, 2007).

Metode maserasi digunakan karena memiliki banyak keuntungan, diantaranya adalah prosedur dan peralatan yang digunakan sederhana, metode ekstraksi tidak dipanaskan sehingga bahan alam tidak menjadi terurai (Nurhasnawati, dkk 2017).

Metode maserasi juga telah dilakukan dalam penelitian uji aktivitas antioksidan ekstrak etanolik kenikir *(Cosmos caudatus)*, serta penentuan kandungan fenolik dan flavonoid totalnya. (Nurhaeni, F., 2014)

5. Fraksinasi

Fraksinasi merupakan prosedur pemisahan yang bertujuan memisahkan golongan utama kandungan yang satu dari golongan utama yang lain. Pemisahan jumlah dan jenis senyawa menjadi fraksi yang berbeda untuk tiap tanaman berbeda - beda. Senyawa yang bersifat polar akan masuk ke pelarut polar dan senyawa yang bersifat non polar akan masuk ke pelarut non polar (Harborne, 1996).

Salah satu metode fraksinasi adalah partisi cair-cair biasa juga disebut sebagai metode corong pisah. Jika suatu cairan ditambahkan ke dalam ekstrak yang telah dilarutkan dalam cairan lain yang tidak dapat bercampur dengan yang pertama, akan terbentuk dua lapisan. Satu komponen dari campuran akan memiliki kelarutan dalam kedua lapisan tersebut (biasanya disebut fase) dan setelah beberapa waktu dicapai kesetimbangan konsentrasi dalam kedua lapisan. Waktu yang diperlukan untuk tercapainya kesetimbangan biasanya dipersingkat oleh pencampuran keduanya dalam corong pisah (Tobo, 2001).

Fraksinasi dengan metode partisi cair – cair telah dilakukan untuk uji aktivitas antioksidan fraksi etil asetat ekstrak etanol kulit pisang raja *(Musa paradisiaca var. Raja)* dengan metode DPPH (1,1-defenil-2-pikrihidrazil) beserta identifikasi senyawa flavonoidnya (Fadilah, 2016)

6. Spektrofotometri UV-Visibel

Spektrofotometri adalah suatu metode analisis yang didasarkan pada pengukuran serapan monokromatis oleh larutan berwarna pada panjang gelombang spesifik dengan menggunakan monokromator prisma atau kisi difraksi dengan detektor fototube. Spektrofotometer adalah instrumen yang digunakan untuk mengukur transmitan atau absorban suatu sampel sebagai fungsi panjang gelombang. Spektrofotometer terdiri dari spektrometer dan fotometer. Spektrometer menghasilkan sinar dari spektrum dengan panjang gelombang tertentu dan fotometer adalah alat pengukur intensitas cahaya yang ditranmisikan atau yang diabsorpsi (Khopkar, 1990).

Teknik yang biasa digunakan dalam analisis meliputi spektrofotometer ultraviolet, inframerah dan cahaya tampak (visibel). Panjang gelombang spektrofotometer ultraviolet adalah 190-350 nm dan cahaya tampak atau visibel adalah 350-780 nm. Gugus fungsi yang menyerap radiasi di daerah ultraviolet dan cahaya tampak (visibel) disebut gugus kromofor (Lestari, 2007).

Prinsip kerja spektrofotometer adalah bila cahaya (monokromatik maupun campuran) jatuh pada suatu medium homogen, sebagian dari sinar masuk akan dipantulkan, sebagian diserap dalam medium itu, dan sisanya diteruskan. Nilai yang keluar dari cahaya yang diteruskan dinyatakan dalam nilai absorbansi karena memiliki hubungan dengan konsentrasi sampel (Rohman, 2007).

Bersarnya serapan (absorbansi) sebanding dengan besarnya konsentrasi larutan uji. Pernyataan ini dikenal dengan hukum Lambert Beer :

$A = a.b.c$ atau $A = \varepsilon.b.c$

A = absorban

B = tebal laju larutan

Ɛ = tetapan absorptivitas molar

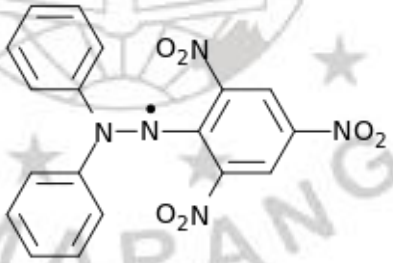
A = absorptivitas

C = konsentrasi larutan yang diukur (Darchriyanus, 2004)

Metode spektrofotometri ini telah dilakukan untuk menentukan absorbansi berbagai tanaman seperti bayam, sawi, kenikir, dan kemangi yang kemudian digunakan untuk menghitung IC_{50} (Nurhaeni dkk., 2014).

7. DPPH *(1,1-Difenil-2-pikrihidrazil)*

DPPH (1,1-Difenil-2-pikrihidrazil) adalah suatu radikal sintetik yang stabil, larut dalam pelarut polar seperti metanol dan etanol, serta dapat diukur intensitasnya pada panjang gelombang 500-525 nm. DPPH dapat bereaksi dengan senyawa yang dapat mendonorkan atom hidrogen yang berguna untuk pengujian aktivitas antioksidan dari suatu ekstrak. Senyawa DPPH bereaksi dengan senyawa antioksidan melalui pengambilan atom hidrogen dari senyawa antioksidan untuk mendapatkan pasangan elektron. Senyawa yang bereaksi sebagai penangkap radikal akan mereduksi DPPH, yang dapat diamati dengan adanya perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning ketika elektron ganjil dari radikal DPPH telah berpasangan dengan hidrogen dari senyawa penangkap radikal bebas (Molyneux, 2004). Gambar struktur kimia DPPH dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Struktur Kimia DPPH (Molyneux, 2004)

8. *Inhibitor concentrasion* (IC_{50})

IC_{50} adalah agen konsentrasi yang menghasilkan penurunan 50% pada sampel dan kontrol. Jika nilai persen penghambatan sesuai pada setiap konsentrasi sampel pengujian yang dihitung, nilai persen penghambatan dapat diplotkan pada grafik yang memperoleh nilai IC_{50} (Blumenthal dkk.,

2005). Harga IC_{50} berbanding terbalik dengan kemampuan zat atau senyawa yang bersifat antioksidan. Semakin kecil IC_{50} semakin kuat daya antioksidannya (Molyneux, 2004). Klasifikasi aktivitas antioksidan menurut Blois (1958) dapat dilihat pada Tabel I.

Tabel 1. Klasifikasi Aktivitas Antioksidan (Blois, 1958)

Nilai IC_{50}	Antioksidan
<50 ppm	Sangat kuat
50-100 ppm	Kuat
100-150 ppm	Sedang
151-200 ppm	Lemah

F. Landasan Teori

Pola hidup manusia yang tidak teratur menyebabkan tubuh kita membentuk radikal bebas yang dapat menyebabkan penyakit degeneratif seperti kanker, penyakit jantung, pembuluh darah dan *stroke*. Radikal bebas yang merusak tubuh ini dapat diikat oleh senyawa antioksidan, sehingga dapat mencegah penyakit tersebut (Werdhasari, 2014). Salah satu sumber antioksidan alami adalah selada merah yang mengandung flavonoid, antosianin dan senyawa fenolik yang berkhasiat sebagai antioksidan (Gan dan Azrina, 2016).

Senyawa flavonoid mampu berperan sebagai antioksidan karena dapat berperan sebagai *free radical scavangers* yang mampu melepaskan atom hidrogen dari gugus hidroksilnya, dimana atom hidroksil tersebut akan berikatan dengan radikal bebas sehingga menjadi netral kembali (Harborne, 1987). Aktivitas antioksidan selada merah menggunakan metode ekstraksi *freeze-dried*

menunjukkan nilai IC_{50} sebesar 303, 56 ppm serta positif mengandung senyawa flavonoid dan fenolik (Gan dan Azrina, 2016).

G. Hipotesis

Berdasarkan landasan teori diatas dapat diambil hipotesis yaitu :

1. Fraksi etil asetat dari ekstrak etanol selada merah *(Lactuca sativa Var. chrispa)* mempunyai aktivitas antioksidan
2. Fraksi etil asetat ekstrak dari selada merah *(Lactuca sativa Var. chrispa)* mengandung senyawa flavonoid

UNIVERSITAS WAHID HASYIM SEMARANG