

BAB I

PENDAHULUAN

A. LATAR BELAKANG MASALAH

Antioksidan merupakan zat yang dapat menetralkan radikal bebas, atau suatu bahan yang berfungsi mencegah sistem biologi tubuh dari efek merugikan yang timbul dari proses ataupun reaksi yang menyebabkan oksidasi yang berlebihan. Antioksidan secara luas telah digunakan untuk melindungi makanan dari degradasi oksidatif. Berdasarkan sumbernya antioksidan dibagi menjadi dua macam, yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetis (buatan). Antioksidan sintetis mempunyai efektivitas tinggi, namun belum tentu aman bagi kesehatan. Antioksidan alami memiliki keuntungan yaitu aman karena tidak terkontaminasi zat kimia dan mudah diperoleh Pokorny *and* Korczak (2001). Berbagai bukti ilmiah menunjukkan bahwa antioksidan dapat mengurangi resiko terhadap penyakit kronis seperti kanker dan penyakit jantung koroner. Karakter dari senyawa antioksidan yaitu memiliki kemampuan dalam menangkap radikal bebas Prakash, (2001). Antioksidan alami antara lain fenol, kumarin, hidroksi sinamat, tokoferol, difenol, flavonoid, dihidroflavon, kathekin, asam askorbat. Contoh-contoh antioksidan sintesis antara lain *butylated hydroxy toluene* (BHT) dan *butylated hydroxy anisole* (BHA), propil gallat dan etoksiquin Cahyadi, (2006).

Cabai merah (*Capsicum frutescens* L.) merupakan tumbuhan yang masih satu genus dengan cabai rawit (*Capsicum annum* L), namun perkembangan penelitian terhadap cabai merah belum banyak dilakukan.

Yunita (2012) melakukan penelitian uji antioksidan terhadap bagian daun cabai rawit bahwa ekstrak metanol daun cabai rawit memiliki nilai IC_{50} sebesar 48,28 ppm (antioksidan kuat). Penelitian Astuti, (2016) dijelaskan bahwa ekstrak kloroform daun cabe merah mengandung polifenol, tanin dan flavonoid dan memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} 76,58 ppm (antioksidan kuat). Pada tanaman berjenis sama (*Capsicum annum* L.) menunjukkan aktivitas senyawa kapsaisinoid dan flavonoid. Aktivitas antioksidan kapsaisinoid dan flavonoid yang tinggi dimiliki buah yang berada dalam tingkat kematangan tinggi. Tingkat kematangan buah yang diuji dalam penelitian ini dibedakan berdasarkan warnanya, yaitu buah berwarna hijau kecil, hijau, dan merah Peruncka dan Materska, (2001).

Berdasarkan latar belakang diatas maka dilakukan penelitian uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun cabe merah besar dengan metode DPPH serta identifikasi flavonoid.

B. PERUMUSAN MASALAH

Dari latar belakang diatas maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut:

1. Apakah ekstrak etanol daun cabai merah besar (*Capsicum annum* L.) memiliki aktivitas antioksidan?
2. Apakah ekstrak etanol daun cabe merah besar (*Capsicum annum* L.) mengandung senyawa flavonoid dengan metode Kromatografi Lapis Tipis?

C. TUJUAN PENELITIAN

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mengetahui uji aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun cabai merah besar (*Capsicum annum* L.) dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil).
2. Mengetahui senyawa flavonoid yang terkandung dalam ekstrak etanol daun cabai merah besar (*Capsicum annum* L.) dengan metode KLT (Kromatografi Lapis Tipis).

D. MANFAAT PENELITIAN

Penelitian ini diharapkan dapat menambah bukti ilmiah pemanfaatan daun cabai merah besar (*Capsicum annum* L.) yang memiliki aktivitas antioksidan agar penyakit degeneratif seperti kanker, diabetes, dan hiperkolesterol, yang disebabkan radikal bebas dapat terkendali. Hasil penelitian juga diharapkan sebagai bukti ilmiah pemanfaatan daun cabai besar tidak hanya sebagai limbah tetapi juga untuk peningkatan kesehatan.

E. TINJAUAN PUSTAKA

1. Tinjauan Cabai Merah Besar (*Capsicum annum* L.)

a. Klasifikasi

Klasifikasi cabai merah besar (*Capsicum annum* L.) dalam sistematika tanaman (taksonomi) menurut Devi, N.R., (2010):

Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Solanaceae
Famili	: Solanaceae
Genus	: Capsicum
Spesies	: <i>Capsicum annum</i> L



Gambar 1. Daun Cabai Merah Besar (Dokumen Pribadi)

b. Morfologi

Tanaman cabai rawit berupa terna perdu setinggi 50 cm sampai 150 cm, batang berbiku-biku atau bagian atasnya bersudut, tidak berbulu. Daun berbentuk bundar telur sampai lonjong atau bundar telur meruncing, 1 cm sampai 12 cm, tidak berbulu atau 2 sampai 3 bunga letaknya berdekatan. Mahkota bunga berbentuk bintang, berwarna putih, putih kehijauan atau kadang kadang ungu, garis tengahnya 1,75 mm sampai 2 mm. Kelopak bunga berbulu dan tidak berbulu, panjang 2 mm sampai 3 mm. Buah tegak kadang-kadang pada tanaman hibrid buah merunduk, berbentuk bulat telur, jorong panjang 0,75 mm sampai 1,50 mm, lebar 2,5 cm sampai 12 cm, buah muda berwarna hijau tua putih kehijauan dan putih, apabila masak berwarna merah terang. Cabe rawit diperbanyak dengan biji.

Tanaman cabai rawit berasal dari amerika di daerah tropik. Tumbuh di pulau jawa dan daerah lainnya di Indonesia. Di Jawa tumbuh di daratan rendah hingga pegunungan, pada ketinggian tempat 0,5 m sampai 1.250 m di atas permukaan laut. Sering ditanam orang atau tumbuh liar di tepi tegalan, di pekuburan, di desa, dan di hutan yang terbuka.

c. Kandungan Kimia

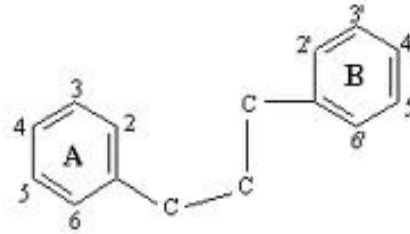
Salah satu kandungan kimia dalam Daun Cabai Rawit (*Capsicum annum* L) yaitu flavonoid. Senyawa flavonoid adalah senyawa polifenol yang mempunyai 15 atom karbon yang tersusun dalam konfigurasi C6-

C3-C6 , yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh 3 atom karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga. Flavonoid terdapat dalam semua tumbuhan hijau sehingga dapat ditemukan pada setiap ekstrak tumbuhan (Markham, 1988). Golongan flavonoid dapat digambarkan sebagai deretan senyawa C₆-C₃-C₆, artinya kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C₆ (cincin benzena tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga karbon (Robinson, 1998).

Flavonoid merupakan kandungan khas tumbuhan hijau dengan mengecualikan alga. Flavonoid sebenarnya terdapat pada semua bagian tumbuhan termasuk daun, akar, kayu, kulit, tepung sari, nektar, bunga, buah dan biji. Penyebaran jenis flavonoid pada golongan tumbuhan yang terbesar, yaitu angiospermae (Markham, 1988).

Flavonoid adalah senyawa polar yang larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, air, dimetilsulfoksida (DMSO) dan dimetilformamida (DMF). Gula yang terikat pada flavonoid (bentuk umum yang ditemukan) menyebabkan flavonoid lebih mudah larut dalam air, sehingga campuran pelarut di atas dengan air merupakan pelarut yang lebih baik untuk glikosida (Markham, 1988). Senyawa flavonoid juga dapat menghambat penggumpalan keping-keping sel darah, merangsang produksi nitrit oksida yang dapat melebarkan (relaksasi) pembuluh darah dan juga dapat menghambat pertumbuhan sel kanker (Winarsi, 2007).

Struktur flavonoid dapat dilihat pada Gambar 2 sebagai berikut:



Gambar 2. Struktur flavonoid (Markham, 1988)

d. Khasiat Tanaman

Ekstrak daun cabe rawit memiliki senyawa aktif berupa flavonoid yang memiliki aktivitas antibakteri. Flavonoid merupakan senyawa fenol yang terbesar dalam yang terdapat pada tumbuhan yang salah satunya memiliki sifat antibakteri (Dinata, 2008). Kemungkinan aktivitas antibakteri flavonoid dapat menyebabkan kerusakan struktur protein yang terkandung dalam dinding sitoplasma bakteri.

Flavonoid dapat mengubah sifat fisik dan kimia sitoplasma yang mengandung protein dan mendenaturasi dinding sel bakteri, dengan cara berikatan dengan protein melalui ikatan hidrogen. Aktivitas ini dapat mengganggu fungsi permeabilitas selektif, fungsi pengangkutan aktif dan pengendalian susunan protein (Pelzar dan Chan, 1998). Dengan terganggunya dinding sel akan menyebabkan lisis pada sel (Dewi, 2010). Ada tiga mekanisme flavonoid sebagai antibakteri, antara lain dengan menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel dan menghambat metabolisme energy (Hendra dkk, 2011). Mekanisme antibakteri flavonoid menghambat sintesis asam nukleat adalah cincin

Adan B yang memegang peran penting dalam proses interkelasi atau ikatan hydrogen dengan menumpuk basa asam nukleat yang menghambat pembentukan DNA dan RNA. Letak gugus hidroksil di posisi 2',4' atau 2',6' dihidroksilasi pada cincin B dan 5,7 dihidroksilasi pada cincin A berperan penting terhadap aktivitas antibakteri flavonoid. Flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, dan lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri (Cushnie *dkk*, 2005).

Mekanisme kerja flavonoid menghambat fungsi membran sel adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Nuria *dkk*, 2009). Penelitian lain menyatakan mekanisme flavonoid menghambat fungsi membran sel dengan cara mengganggu permeabilitas membran sel dan menghambat ikatan enzim seperti ATPase dan phospholipase (Li *dkk*, 2003). Flavonoid dapat menghambat metabolisme energi dengan cara menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri. Flavonoid menghambat pada sitokrom C reduktase sehingga pembentukan metabolisme terhambat. Energi dibutuhkan bakteri untuk biosintesis makromolekul. Flavonoid dapat menghambat metabolisme energy dengan cara menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri. Flavonoid menghambat pada sitokrom C reduktase sehingga pembentukan metabolisme terhambat. Energi dibutuhkan bakteri untuk biosintesis makromolekul (Cushnie *dkk*, 2005). Adapun

keterbatasan pada penelitian ini yaitu belum di lakukan uji secara kuantitatif kadar flavonoid yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

2. Radikal Bebas

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang mempunyai elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya dan dapat berdiri sendiri (Clarkson and 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 di dekat simbol atom ($R\bullet$). ROS (*Reactive Oxygen Species*) adalah senyawa pengoksidasi turunan oksigen yang bersifat sangat reaktif yang terdiri atas kelompok radikal bebas dan kelompok nonradikal. Kelompok radikal bebas antara lain *superoxide anion* ($O_2^{\bullet-}$), *hydroxyl radicals* ($OH\bullet$), dan *peroxyl radicals* ($RO_2\bullet$). Yang nonradikal misalnya *hydrogen peroxide* (H_2O_2), dan *organic peroxides* ($ROOH$) (Halliwell and 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 yang berlebihan atau produksi antioksidan yang tidak mencukupi dapat menyebabkan kerusakan dari 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

peroksidasi lipid. Selain peroksidasi lipid, kerusakan sel juga disebabkan oleh peroksidasi protein dan kerusakan DNA (Arief, 2007).

3. Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat kerja radikal bebas dengan cara menyerahkan 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 kanker (Pokorny *et al.*, 2001).

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

Antioksidan sintetis adalah antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesis 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 karsinogenesis (Ito *et al.*, 1986).

Senyawa antioksidan yang diisolasi dari sumber alami adalah yang berasal dari tumbuhan yaitu tokoferol, vitamin C, betakaroten, flavonoid dan senyawa fenolik. Isolasi antioksidan alami telah dilakukan dari tumbuhan yang dapat

dimakan. Antioksidan alami tersebar di beberapa bagian tanaman, seperti pada kayu, kulit kayu, akar, daun, buah, bunga, biji dan serbuk sari (Pratt, 1992).

4. Vitamin C

Vitamin C adalah nutrisi dan vitamin yang larut dalam air dan penting untuk kehidupan serta untuk menjaga kesehatan. Vitamin ini juga dikenal dengan nama kimia dari bentuk utamanya yaitu asam askorbat. Vitamin C dikenal sebagai antioksidan terlarut air, vitamin C juga secara efektif mengambil formasi ROS (*Reactive Oxygen Species*) dan radikal bebas (Frei, 1994).

Vitamin C dapat langsung bereaksi dengan anion superoksida, radikal hidroksil, oksigen singlet dan lipid peroksida. Sebagai reduktor asam askorbat akan mendonorkan satu elektron membentuk semi dehidroaskorbat yang tidak bersifat reaktif dan selanjutnya mengalami reaksi disproporsionasi membentuk dehidroaskorbat yang bersifat tidak stabil. Dehidroaskorbat akan terdegradasi membentuk asam oksalat dan asam treonat. Oleh karena kemampuan vitamin C sebagai penghambat radikal bebas, maka peranannya sangat penting dalam menjaga integritas membran sel (Suhartono *et al.*, 2007).

5. Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pemisahan suatu bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang didasarkan pada kelarutan komponen terhadap komponen lain dalam campuran (Depkes RI, 2000). Sebelum memulai ekstraksi, dilakukan persiapan bahan baku yang mencakup pengeringan bahan sampai kadar air tertentu dan penggilingan bahan untuk mempermudah proses ekstraksi. Selain itu, tingkat kemudahan ekstraksi bahan kering masih ditentukan oleh ukuran

partikel bahan. Bahan yang akan diekstrak sebaiknya berukuran seragam untuk mempermudah kontak antar bahan dengan pelarut (Purseglove *et al.*, 1981).

Pelarut yang biasa digunakan air, eter atau campuran etanol dan air. Ekstraksi dengan menggunakan pelarut dibedakan menjadi dua macam, yaitu metode dingin dan metode panas. Metode dingin terdiri dari maserasi dan perkolasi, sedangkan metode panas terdiri dari refluks, soxhletasi, digesti, infus dan dekok. 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. Sifat dari suatu bahan mentah obat merupakan faktor utama yang harus dipertimbangkan dalam memilih metode ekstraksi (Ansel, 1989).

Perkolasi merupakan metode ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai terjadi suatu penyarian sempurna (*exhaustive extraction*) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan (suhu kamar). Proses ini terdiri dari pengembangan bahan, tahap maserasi antara tahap perkolasi sebenarnya (penetesan atau penampungan ekstrak), terus menerus hingga dihasilkan ekstrak (perkolat). Ekstraksi dengan metode perkolasi membutuhkan pelarut banyak (DepKes RI, 2000).

6. Spektrofotometri

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* (Khopkar, 1990).

Teknik yang biasa digunakan dalam analisis meliputi spektrofotometer ultraviolet, infra merah dan cahaya tampak (visibel). Panjang gelombang spektrofotometer ultraviolet adalah 190-350 nm dan cahaya tampak atau visibel adalah 350-780 nm (Depkes RI, 1995). Gugus fungsi yang menyerap radiasi di daerah ultraviolet dan cahaya tampak (visibel) disebut gugus kromofor (Dachriyanus, 2004).

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).

Besarnya serapan (absorbansi) sebanding dengan besarnya konsentrasi (c) larutan uji. Pernyataan ini dikenal dengan Hukum Lambert Beer: (Dachriyanus, 2004).

$$A = a \cdot b \cdot c \text{ atau } A = \epsilon \cdot b \cdot c$$

Dimana:

A = absorban

a = absorptivitas

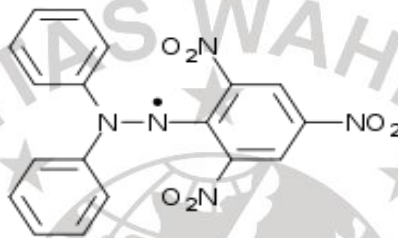
b = tebal laju larutan

c = konsentrasi larutan yang diukur

ϵ = tetapan absorptivitas molar

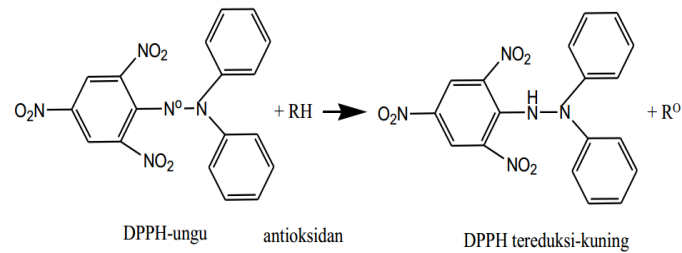
7. Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)

DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) adalah suatu radikal sintetik yang stabil, larut dalam pelarut polar seperti metanol dan etanol, serta dapat diukur intensitasnya pada panjang gelombang 515-517 nm. DPPH dapat bereaksi dengan senyawa yang dapat mendonorkan atom hidrogen yang berguna untuk pengujian aktivitas antioksidan dari suatu ekstrak (Molyneux, 2004). Struktur kimia DPPH dapat dilihat pada Gambar 3 sebagai berikut:



Gambar 3. Struktur Kimia DPPH (Mulyneux, 2004)

DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) adalah suatu radikal sintetik yang stabil, larut dalam pelarut polar seperti methanol 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 electron. Senyawa yang bereaksi sebagai penangkap radikal akan mereduksi DPPH, yang dapat diamati dengan adanya perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning ketika electron ganjil dari radikal DPPH telah berpasangan dengan hidrogen dari senyawa penangkap radikal bebas (Molyneux, 2004). Reaksi radikal bebas DPPH dengan senyawa antioksidan dapat dilihat pada gambar 4 sebagai berikut:



Gambar 4. Reaksi Radikal Bebas DPPH dengan Senyawa Antioksidan (Rohmatussolihat, 2009)

8. Inhibition Concentration (IC_{50})

Parameter yang digunakan untuk menginterpretasikan hasil pengujian DPPH adalah IC_{50} (*inhibition concentration*) merupakan konsentrasi larutan substrat yang menyebabkan reduksi terhadap aktivitas DPPH sebesar 50% (Molyneux, 2004). Nilai IC_{50} dapat dihitung menggunakan persamaan regresi linier dengan konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan % inhibisi sebagai sumbu Y, sehingga diperoleh persamaan $Y = bx + a$. Harga IC_{50} berbanding terbalik dengan kemampuan zat atau senyawa yang bersifat antioksidan. Semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin besar aktivitas suatu antioksidan (Molyneux, 2004). Tabel spesifitas daya antioksidan menurut Blois (1958) dapat dilihat pada Tabel I.

Tabel I. Spesifitas daya antioksidan menurut Blois (1958) adalah:

Spesifitas Daya Antioksidan	Nilai IC_{50}
Sangat Kuat	$IC_{50} < 50 \text{ ppm}$
Kuat	$50 \text{ ppm} > IC_{50} < 100 \text{ ppm}$
Sedang	$100 \text{ ppm} > IC_{50} < 150 \text{ ppm}$
Lemah	$150 \text{ ppm} > IC_{50} < 200 \text{ ppm}$
Sangat Lemah	$IC_{50} > 200 \text{ ppm}$

9. Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi digunakan untuk memisahkan komponen yang terkandung dalam ekstrak dimana komponen tersebut terdistribusi di antara dua fase, yaitu fase gerak dan fase diam. Kromatografi lapis tipis merupakan metode yang mudah, cepat, tidak mahal dan memiliki kelebihan dibanding kromatografi kertas yang memiliki keterbatasan dalam penggunaan fase geraknya (Striegel dan Hill, 1996).

Fase diam dapat berupa serbuk halus yang berfungsi sebagai permukaan penjerap (kromatografi cair-padat) atau sebagai penyangga untuk lapisan zat cair (kromatografi cair-cair). Fase diam yang sering dipakai adalah silika gel (asam silikat), alumina (alumina oksida), kiselgur (tanah diatom) dan selulosa (Fried dan Sherma, 1999). Selain itu, fase diam agar dapat memadamkan fluoresensi semua senyawa di bawah sinar UV₂₅₄ haruslah mengandung indikator fluoresensi (Gandjar dan Rohman, 2009).

Fase gerak merupakan media transport komponen yang akan dipisahkan. Komponen tersebut akan memisah berdasarkan kapilaritas dan hasil gaya tarik dari fase gerak dan gaya hambat dari fase diam. Fase gerak di dalam kromatografi lapis tipis dapat berupa pelarut tunggal ataupun campuran pelarut (Fried dan Sherma, 1999).

Kromatogram yang telah dielusi dengan fase gerak dapat dideteksi dengan berbagai cara. Deteksi kromatogram akan lebih mudah dilakukan apabila senyawa yang dipisahkan memiliki warna, berpendar atau menyerap sinar ultraviolet. Penyerapan sinar ultraviolet biasanya terjadi pada senyawa yang memiliki ikatan

rangkap terkonjugasi atau senyawa aromatik. Akan tetapi tidak semua senyawa memiliki warna, berpendar, ataupun menyerap sinar ultraviolet secara alami, sehingga perlu diberi pereaksi penampak bercak sehingga dapat menghasilkan warna atau pendaran Sherma, (1994).

Pengamatan pada kromatografi lapis tipis dilakukan dengan cara melihat nilai R_f (*Retardation factor*) dari solut. Nilai R_f didefinisikan sebagai jarak yang ditempuh solut dibagi jarak yang ditempuh fase gerak. Rumusnya adalah sebagai berikut : Gandjar dan Rohman, (2009):

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh senyawa terlarut}}{\text{Jarak yang ditempuh pelarut}}$$

Nilai R_f dinyatakan hingga angka 1,0. Nilai R_f yang baik yang menunjukkan pemisahan yang cukup baik adalah berkisar antara 0,2-0,8 Gandjar dan Rohman, (2009).

A. LANDASAN TEORI

Astuti (2016) melakukan penelitian pada ekstrak kloroform daun cabe merah menunjukkan adanya aktivitas antioksidan yang ditunjukkan nilai IC_{50} 76,58 ppm (antioksidan kuat) dan mengandung flavonoid. Penelitian Yunita (2012) menyatakan bahwa ekstrak daun cabe rawit dengan menggunakan tiga pelarut yang berbeda yaitu n-heksan, etil asetat dan metanol menunjukkan aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} masing-masing 160,81 $\mu\text{m/mL}$ (antioksidan lemah), 105,08 $\mu\text{m/mL}$ (antioksidan sedang) dan 48,28 $\mu\text{m/mL}$ (antioksidan sangat kuat). Pada tanaman (*Capsicum annum* L.) menunjukkan aktivitas senyawa antioksidan kapsaisinoid dan flavonoid yang tinggi dimiliki buah yang berada dalam tingkat kematangan tinggi, tingkat kematangan buah yang diuji dalam penelitian ini

dibedakan berdasarkan warnanya, yaitu buah berwarna hijau kecil, hijau, dan merah. Peruncka dan Materska, (2001).

Juarez *et al*, (2012) melakukan penelitian pada ekstrak metanol cabai merah (*Capsicum annum* L.) mengandung flavonoid total dengan konsentrasi dari range $25,38 \pm 3,44$ sampai $60,36 \pm 9,94$ mg QE/ 100 g. Materska (2012) melakukan penelitian pada fraksi buah berjenis sama (*Capsicum annum* L.) mempunyai aktivitas antioksidan tinggi dalam mengurangi radikal superoksida dengan nilai $IC_{50} 79 \mu\text{g/mL}^{-3}$ dan DPPH dengan nilai $IC_{50} 43 \mu\text{g/mL}^{-3}$ (antioksidan kuat).

B. HIPOTESIS

Berdasarkan landasan teori, hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah :

1. Ekstrak etanol daun cabai merah besar (*Capsicum annum* L.) memiliki aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dengan kadar IC_{50} tertentu.
2. Ekstrak etanol daun cabai merah besar (*Capsicum annum* L.) mengandung senyawa flavonoid dengan kadar flavonoid tertentu..