

BAB I

PENDAHULUAN

A. LATAR BELAKANG MASALAH

Radikal bebas adalah atom atau gugus atom yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan. Radikal bebas merupakan molekul yang sangat reaktif karena memiliki elektron yang tidak berpasangan dalam orbital luarnya sehingga dapat bereaksi dengan molekul sel tubuh dengan cara mengikat elektron sel tersebut (Fessenden, 1997). Radikal bebas dapat mengganggu integritas sel dan dapat bereaksi dengan komponen-komponen sel, baik komponen struktural meliputi molekul-molekul penyusun membran maupun komponen fungsional meliputi protein, enzim-enzim, dan DNA (Hidayat, 2005). Radikal bebas dapat dijumpai pada lingkungan beberapa logam misalnya besi dan tembaga, asap rokok, polusi udara, obat, bahan beracun, makanan dalam kemasan, bahan aditif, dan sinar ultraviolet matahari yang menyebabkan radiasi. Reaktifitas radikal itu dapat dihambat oleh sistem antioksidan yang merupakan bagian dari sistem kekebalan tubuh (Winarsi, 2007).

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 sintetik (buatan). Antioksidan sintetik mempunyai efektivitas tinggi, namun belum tentu aman bagi kesehatan.

Antioksidan alami memiliki keuntungan yaitu aman karena tidak terkontaminasi zat kimia dan mudah diperoleh (Pokorny dan Korczak, 2001).

Cabai merah (*Capsicum annum* L.) merupakan tumbuhan yang masih satu genus dengan cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) penelitian tentang cabai merah besar belum cukup luas terutama pada bagian daunnya sedangkan penelitian tentang daun cabai rawit sudah cukup luas. Pada umumnya masyarakat hanya mengkonsumsi cabainya saja sebagai bumbu masakan, sedangkan pada bagian daunnya belum banyak dimanfaatkan.

Penelitian yang dilakukan oleh Astuti (2016) pada ekstrak kloroform daun cabai merah mengandung polifenol, tanin dan flavonoid dan memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} 76,58 ppm (antioksidan kuat). Flavonoid terdapat dalam semua tumbuhan hijau sehingga dapat ditemukan pada setiap ekstrak tumbuhan. Pelarut yang dapat melarutkan aglikon flavonoid adalah etil asetat. Etil asetat merupakan pelarut dengan toksisitas rendah yang bersifat semi polar sehingga di harapkan dapat menarik senyawa yang bersifat kurang polar dari aglikon flavonoid (Harborne, 1987).

Latar belakang di atas maka, perlu dilakukan penelitian uji aktivitas antioksidan daun cabai merah besar (*Capsicum annum* L.) dengan cara fraksinasi menggunakan partisi cair-cair terhadap fraksi etil asetat ekstrak etanol daun cabai merah besar dan mengetahui adanya senyawa flavonoid pada daun cabai merah besar dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT).

B. PERUMUAN MASALAH

Dari latar belakang di atas maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut:

1. Apakah fraksi etil asetat ekstrak etanol daun cabai merah besar (*Capsicum annum* L.) mengandung senyawa flavonoid dengan metode kromatografi lapis tipis?
2. Seberapa besar potensi antioksidan fraksi etil asetat ekstrak etanol daun cabai merah besar (*Capsicum annum* L.) yang dinyatakan dengan IC_{50} ?

C. TUJUAN PENELITIAN

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Mengetahui kandungan senyawa flavonoid dalam fraksi etil asetat ekstrak etanol daun cabai merah besar (*Capsicum annum* L.) dengan metode kromatografi lapis tipis.
2. Mengetahui besarnya aktivitas antioksidan fraksi etil asetat ekstrak etanol daun cabai merah besar (*Capsicum annum* L.) dengan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*) yang dinyatakan dengan IC_{50} .

D. MANFAAT PENELITIAN

Penelitian ini diharapkan dapat menambah bukti ilmiah pemanfaatan daun cabai merah besar (*Capsicum annum* L.) yang memiliki aktivitas antioksidan, untuk mengatasi penyakit degeneratif yang disebabkan radikal bebas. Hasil penelitian juga diharapkan sebagai bukti ilmiah pemanfaatan

daun cabai merah besar sehingga daun cabai merah besar tidak hanya sebagai limbah tetapi juga untuk peningkatan kesehatan.

E. TINJAUAN PUSTAKA

1. Tinjauan daun cabai merah besar (*Capsicum annum L.*)

a. Klasifikasi

Menurut klasifikasi dalam tata nama (sistem tumbuhan)

tanaman cabai termasuk kedalam:

Kingdom : Plantae

Sub Kingdom: Tracheobionta

Super Divisi : Spermatophyta

Divisi : Magnoliophyta

Class : Magnoliopsida

Ordo : Solanales

Famili : Solanaceae

Genus : *Capsicum*

Spesies : *Capsicum annum L.* (Lampiran 1)

b. Morfologi

Morfologi daun cabai menurut (Darmawan, 2010) berbentuk hati, lonjong, atau agak bulat telur dengan posisi berselang-seling. Bagian permukaan daun bagian atas berwarna hijau tua, sedangkan bagian permukaan bawah berwarna hijau muda atau hijau terang.

Panjang daun berkisar 9 -15 cm dengan lebar 3,5-5 cm. selain itu daun cabai merupakan daun tunggal, bertangkai, letak tersebar.

Cabai atau lombok termasuk dalam suku terong-terongan (solanaceae) dan merupakan tanaman yang mudah ditanam di dataran rendah ataupun di dataran tinggi. Tanaman cabai banyak mengandung vitamin A dan vitamin C serta mengandung minyak atsiri capsaicin, yang menyebabkan rasa pedas dan memberikan kehangatan panas bila digunakan untuk rempah-rempah (bumbu dapur). Cabai dapat ditanam dengan mudah sehingga bisa dipakai untuk kebutuhan sehari-hari tanpa harus membelinya di pasar (Harpenas, 2010). Seperti tanaman yang lainnya, tanaman cabai mempunyai bagian bagian tanaman seperti akar, batang, daun, bunga, buah, dan biji. Tanaman cabai merah besar dapat dilihat pada gambar 1 dibawah ini:

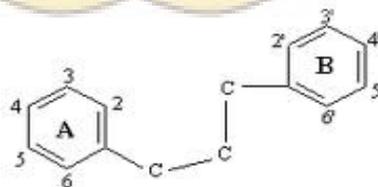


Gambar 1. Tanaman cabai merah besar (Dokumen Pribadi)

c. Kandungan Kimia

Tanaman cabai merah mengandung glikosida alkaloid steroid (solanin, solanidin, solasonid). Biji cabai merah mengandung glikosida steroid capsicosid A sampai D. Cabai merah kaya akan pigmen karotenoid, termasuk capsantin capsorubrin, caroten, lutein, zeaxanthin, dan cucurbitaxanthin A (Fathima, 2015).Astuti (2016) Daun cabai merah mengandung senyawa polifenol tanin dan 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. 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, 1995). Struktur flavonoid dapat dilihat pada Gambar 2 sebagai berikut:



Gambar 2. Struktur flavonoid (Markham, 1988)

Flavonoid merupakan kandungan khas tumbuhan hijau dengan mengecualikan alga. Flavonoid sebenarnya terdapat pada

semua bagian tumbuhan termasuk daun, akar, kayu, kulit, tepung sari, nectar, bunga, buah dan biji. Penyebaran jenis flavonoid pada golongan tumbuhan yang terbesar, yaitu angiospermae (Markham, 1988).

Senyawa flavonoid bersifat polar. Kepolaran senyawa ini ditentukan oleh adanya gugus hidroksil. Umumnya flavonoid dapat larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton, dimetilsulfoksida (DMSO), dimetilformamid (DMF), dan air. Metode yang dapat dikembangkan untuk pendeteksian flavonoid dalam suatu ekstrak tanaman adalah metode kromatografi lapis tipis (KLT) (Markham, 1988).

d. Khasiat Tanaman

Cabai (*Capsicum annum* L.) berguna sebagai penyedap masakan, di samping itu juga mengandung zat-zat gizi tinggi yang sangat dibutuhkan manusia untuk kesehatan seperti protein, lemak, kalsium (Ca) fosfor (P) besi (Fe), vitamin-vitamin dan didalamnya mengandung senyawa-senyawa alkaloid seperti capsaicin, flavonoid, dan minyak esensial (Prajnanta, 2007). Cabai selain mengandung protein capsaicin menurut (Wiryanta, 2002.) juga mengandung senyawa capsikidin terdapat di dalam biji cabe tersebut, yang berguna untuk memperlancar sekresi asam lambung, mencegah infeksi sistem pencernaan pembersih paru, dan asma.

2. 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 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 dan Whiteman, 2004).

Radikal bebas yang terbentuk dari dalam tubuh (endogen) terbentuk dari sisa proses metabolisme (proses pembakaran) protein, karbohidrat, dan lemak pada mitokondria, proses inflamasi atau peradangan, reaksi antara logam transisi dalam tubuh. Untuk radikal bebas yang berasal dari luar tubuh (eksogen) yaitu dari asap rokok, polusi lingkungan, radiasi, obatobatan, pestisida, anestetik, limbah industri, ozon, serta sinar ultraviolet (Langseth, 1995).

Mekanisme terbentuknya radikal bebas dimulai dari berbagai hal, baik yang bersifat endogen maupun eksogen. Terjadi reaksi peroksidasi lipid membran dan sitosol yang mengakibatkan terjadinya serangkaian reduksi asam lemak sehingga terjadi kerusakan membran dan organel sel (Kusumadewi, 2002).

1. Tahapan inisiasi, merupakan tahapan awal yang menyebabkan terbentuknya radikal bebas.
2. Tahapan propagasi, merupakan tahapan pemanjangan rantai radikal bebas yang membuat radikal bebas cenderung bertambah banyak melalui reaksi rantai dengan molekul lain.
3. Tahapan terminasi, merupakan proses terjadinya reaksi radikal bebas dengan radikal bebas lain atau antara radikal bebas dengan penangkap radikal. Reaksi ini dapat mengubah radikal bebas menjadi radikal bebas stabil dan tidak reaktif yang menyebabkan propagasinya rendah sehingga tidak ada radikal bebas baru yang terbentuk dalam tahapan ini dan rantai menjadi putus.

3. Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang dapat menunda, memperlambat dan mencegah terjadinya reaksi oksidasi (Winarsi, 2007). Antioksidan alami dapat diperoleh dari hasil ekstraksi bahan alam yang diisolasi dari suatu tumbuhan. Antioksidan alami banyak tersebar pada bagian kayu, kulit kayu, akar, daun, buah, biji, dan serbuk sari. Antioksidan alami

umumnya merupakan dalam senyawa fenolik/polifenolik yang dapat berupa golongan flavonoid, dan yang dapat memberikan efek antioksidan meliputi flavones, flavonol, flavonon, isoflavon, katekin, dan kalkon (Droge, 2002).

Antioksidan sintetis adalah antioksidan buatan dari sintesis reaksi kimia. Antioksidan sintetis yang sering digunakan adalah antioksidan dari golongan fenol seperti BHA (*butylated hydroxyanisol*), BHT (*butylatedhydroxytoluene*), TBHQ (*tersier butylhydroquinone*) dan ester dari asam galat seperti PG (propel galat) (Gordon, 1990). Antioksidan sintetis telah sepenuhnya diuji reaksi toksisitasnya tetapi beberapa diantaranya menjadi toksik setelah penggunaan dalam waktu lama (Takashi dan Takayuni, 1997).

4. **Simplisia**

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan. Dengan kata lain, simplisia merupakan bahan baku proses pembuatan ekstrak, baik sebagai bahan obat atau produk. Simplisia dibedakan atas simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelikan (mineral). Simplisia nabatia adalah simplisia yang berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan, atau eksudat tumbuhan. Eksudat tumbuhan adalah isi sel berupa suatu senyawa nabati yang dikeluarkan dari sel tumbuhan, baik segera spontan atau dengan cara

tertentu. Eksudat ini belum berupa senyawa murni. Sumpsisia hewani adalah simplisia yang dapat berupa hewan utuh atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa bahan kimia murni, misalnya minyak ikan dan madu. Simplisia pelikan atau mineral adalah simplisia berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa bahan kimia murni, contoh serbuk seng dan tembaga (Deprtemen kesehatan RI, 1995).

5. Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses penyarian senyawa kimia yang terdapat didalam bahan alam atau berasal didalam sel dengan menggunakan pelarut dan metode yang tepat (Deparartemen Kesehatan RI, 1995). Ekstraksi berupa sediaan kering, kental, atau cair dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok diluar pengaruh cahaya matahari langsung. Ekstrak kering harus mudah digerus menjadi serbuk (Depkes RI, 1979). Pada umumnya zat terlarut yang diekstrak bersifat tidak larut atau larut sedikit dalam suatu pelarut tetapi mudah larut dengan pelarut lain. Metode ekstraksi yang tepat ditemukan oleh tekstur kandungan air bahan-bahan yang akan diekstrak dan senyawa-senyawa yang akan diisolasi (Harborne, 1987).

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 (Harborne, 1987).

Proses pemisahan senyawa dalam simplisia, menggunakan pelarut tertentu sesuai dengan sifat senyawa yang akan dipisahkan. Pemisahan pelarut berdasarkan kaidah *like dissolved like* artinya suatu senyawa polar akan larut dalam pelarut polar. Ekstraksi dapat dilakukan dengan bermacam-macam metode, tergantung dari tujuan ekstraksi, jenis pelarut yang digunakan dan senyawa yang diinginkan. Metode ekstraksi dipilih berdasarkan beberapa faktor seperti sifat dari bahan mentah obat, daya penyesuaian dengan tiap macam metode ekstraksi dan kepentingan dalam memperoleh ekstrak yang sempurna atau mendekati sempurna (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 tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan/penampungan ekstrak), terus menerus hingga dihasilkan ekstrak (perkolat). Ekstraksi dengan metode perkolasi membutuhkan pelarut banyak (Depkes RI, 2000).

6. Partisi cair-cair

Teknik yang biasa digunakan untuk tahap fraksinasi bertingkat adalah partisi cair-cair. Prinsip dasar dari pemisahan cara partisi bertingkat cair-cair adalah pemisahan dua senyawa atau lebih berdasarkan perbedaan kelarutan dengan syarat dua pelarut mempunyai sifat tidak saling bercampur (Sudjadi, 1986). partisi cair-cair adalah proses pemisahan zat terlarut didalam 2 macam zat pelarut yang tidak saling bercampur antara pelarut organik dan pelarut air. Fraksinasi bertingkat ekstrak dilakukan dengan metode partisi cair-cair menggunakan pelarut semi polar yaitu etil asetat. Etil asetat adalah senyawa organik yang merupakan ester dari etanol dan asam asetat yang berwujud cairan tak berwarna dan memiliki aroma khas. Etil asetat dapat melarutkan senyawa yang kurang polar dari aglikon flavonoid (Harborne,1987).

7. Spektrofotometri

Spektrofotometri merupakan pengukuran suatu interaksi antara radiasi elektromagnetik dan molekul atau atom dari suatu zat kimia. 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).

Prinsip kerja dari spektrofotometer UV-Vis yaitu sinar dari sumber sinar adalah sinar polikromatis, dilewatkan melalui monokromator, kemudian sinar monokromatis dilewatkan melalui kuvet

yang berisi sampel maka akan menghasilkan sinar yang ditransmisikan dan diterima oleh detektor untuk diubah menjadi energi listrik yang kekuatannya dapat diamati oleh alat pembaca (satuan yang dihasilkan adalah absorban atau transmittan).

Spektrum serapan merupakan hubungan antara serapan dengan panjang gelombang yang biasanya digambarkan dalam bentuk grafik. Spektrum serapan dari zat yang diperiksa kadang kala perlu dibandingkan dengan pembanding kimia yang sesuai. Blanko digunakan untuk koreksi serapan yang disebabkan oleh pelarut pereaksi dan pengaturan alat. Pengukuran serapan biasanya dilakukan pada panjang gelombang serapan maksimum ataupun yang sudah tercantum dalam monografi (Depkes RI, 1979).

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

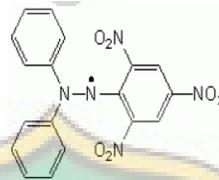
8. Metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*)

Metode Perendaman Radikal DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*) Metode ini dilakukan dengan cara direndam ke dalam larutan DPPH dalam keadaan gelap, kemudian diukur absorbansi dengan spektrofotometer. Selanjutnya ditentukan harga IC_{50} , yakni konsentrasi larutan uji yang memberikan perendaman DPPH sebesar 50%. Harga IC_{50} umum digunakan untuk menyatakan aktivitas antioksidan suatu bahan uji dengan metode perendaman radikal bebas DPPH (Molyneux, 2004).

Radikal bebas yang umumnya digunakan sebagai model dalam penelitian antioksidan atau peredaman radikal adalah *1,1-difenil-2-pikrilhidrazil* (DPPH). Metode dengan DPPH merupakan metode yang sederhana, cepat, dan mudah untuk penapisan aktivitas penangkapan

radikal beberapa senyawa. Selain itu metode ini terbukti akurat, dapat diandalkan dan praktis (Molyneux, 2004).

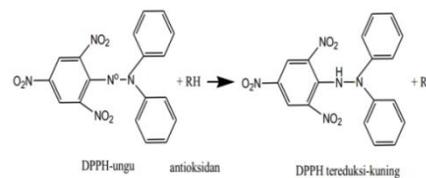
Struktur DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*) dapat dilihat pada gambar 3 sebagai berikut:



Gambar 3. Struktur DPPH (Molyneux, 2004)

DPPH merupakan radikal bebas yang stabil pada suhu kamar dan digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan atau ekstrak bahanalam. Interaksi antioksidan dengan DPPH baik secara transfer elektron atau radikal hidrogen pada DPPH yaitu menetralkan radikal bebas dari DPPH dan membentuk DPPH tereduksi. Jika semua elektron pada radikal bebas DPPH menjadi berpasangan, maka warna larutan berubah dari ungu tua menjadi kuning terang. Perubahan ini dapat diukur sesuai dengan jumlah elektron atau atom hidrogen yang ditangkap oleh molekul DPPH akibat adanya reduktor (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)

9. Vitamin C

Vitamin C adalah nutrien 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).

Antioksidan sekunder yang meliputi vitamin C, vitamin E, karoten dan flavonoid. Vitamin C terdapat pada sayuran dan buah-buahan dan untuk memperoleh antioksidan vitamin C diperlukan asupan buah-buahan dan sayuran (Winarsi, 2007).

10. Kromatografi lapis tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan suatu teknik yang sederhana dan banyak digunakan dalam berbagai analisa kualitatif. Pemisahan senyawa dengan menggunakan metode ini yaitu digunakan lempeng kaca atau lembaran plastik yang tertutup oleh penyerap lapis tipis dan kering. Lapisan yang memisahkan terdiri dari butir-butir (fase diam), ditempatkan pada penyangga berupa pelat gelas, logam atau lapis yang cocok. Campuran yang akan dipisahkan berupa larutan yang ditotolkan berupa bercak. Setelah plat atau larutan dimasukkan dalam bejana tertutup rapat yang berupa (fase gerak) yang cocok. Pemisahan terjadi selama perambatan kapiler, selanjutnya senyawa

yang tidak berwarna harus ditampakan (Stahl, 1985). Deteksi senyawa pada KLT biasanya dilakukan dengan penyemprotan (Harborne, 1987).

Terjadinya pemisahan komponen-komponen pada KLT dengan dihasilkannya R_f tertentu maka dapat dijadikan sebagai panduan untuk memisahkan komponen kimia tersebut. Nilai R_f dapat ditentukan dengan rumus:

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

(Gandjar dan Rohman, 2009).

Fase diam merupakan lapisan penjerap tipis atau media yang digunakan sebagai media pembawa. Penjerap tersebut dilekatkan pada suatu penyangga yang digunakan sebagai pelapis untuk mendapatkan lapisan yang stabil dengan ukuran yang sesuai. Untuk bahan penyangga yang sering digunakan yaitu aluminium dan plastik, sedangkan pada penjerap dapat digunakan silika gel, alumina, dan selulosa (Touchstone dan Dobbins, 1983).

Fase gerak adalah medium transport untuk memisahkan zat terlarut (solute) berdasarkan pergerakan / migrasi sepanjang fase stasioner / diam melalui gaya kapiler (Fried dan Sherma, 1999).

Sifat dan komposisi fase gerak ditentukan oleh jenis zat yang dipisahkan dan jenis penjerap yang digunakan untuk memisahkan. Komposisi fase gerak dapat berupa pelarut murni ataupun campuran kompleks dari beberapa pelarut (Touchstone dan Dobbins, 1983).

Pelarut sendiri diurutkan sesuai dengan efek elusinya (*eluotropic series*). Dalam urutan ini kekuatan elusi bertambah bila pelarut makin polar (tetapan dielektris makin tinggi atau bila tegangan interfasial dengan air makin rendah).

11. *Inhibition Concentration*₅₀ (IC₅₀)

Besarnya aktivitas antioksidan ditandai dengan nilai IC₅₀ atau *Inhibition Concentration*₅₀. Nilai IC₅₀ didefinisikan sebagai konsentrasi larutan sampel yang dapat menyebabkan penurunan aktivitas DPPH sebanyak 50% yang dilihat dari pengurangan intensitas warna ungu. Harga IC₅₀ berbanding terbalik dengan kemampuan zat atau senyawa yang bersifat sebagai antioksidan. Semakin kecil nilai IC₅₀ berarti semakin kuat daya antioksidannya (Molyneux, 2004).

Tabel 1. Spesifitas daya antioksidan menurut Blotis (1958) adalah:

Spesifitas Daya Antioksidan	Nilai IC ₅₀
Sangat Kuat	IC ₅₀ < 50 ppm
Kuat	50 ppm > IC ₅₀ < 100 ppm
Sedang	100 ppm > IC ₅₀ < 150 ppm
Lemah	150 ppm > IC ₅₀ < 200 ppm
Sangat Lemah	IC ₅₀ > 200 ppm

A. LANDASAN TEORI

Yunita (2012) melakukan penelitian pada ekstrak daun cabai rawit menggunakan tiga pelarut yang berbeda yaitu n-heksan, etil asetat dan metanol menunjukkan aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ masing-masing 160,81 µm/mL (antioksidan lemah), 105,08 µm/mL (antioksidan sedang) dan 48,28

$\mu\text{m/mL}$ (antioksidan sangat kuat). Penelitian yang dilakukan oleh Astuti (2016) pada ekstrak kloroform daun cabai merah menunjukkan adanya aktivitas antioksidan dengan nilai $\text{IC}_{50} 76,58$ ppm (antioksidan kuat) dan mengandung senyawa flavonoid. Penelitian yang dilakukan oleh (Juárez *et al*, 2012) pada ekstrak metanol cabai merah (*capsicum annum* L.) terdapat flavonoid total dengan konsentrasi dari range $25,38 \pm 3,44$ sampai $60,36 \pm 9,94$ mg *QE*/ 100 g. Konsentrasi tertinggi flavonoid dalam buah-buahan dan sayuran cenderung ditemukan pada daun, kulit dan biji, tetapi setiap metode pengolahan hampir selalu membuang bagian-bagian tersebut (Clayton, 2008).

Aglikon yang kurang polar dari flavonoid seperti isoflavon, flavanon, flavonol dan flavon mudah larut dalam pelarut semipolar seperti etil asetat dan aseton. Etil asetat merupakan pelarut dengan toksisitas rendah yang bersifat semi polar sehingga di harapkan dapat menarik senyawa yang bersifat kurang polar dari aglikon flavonoid (Harborne, 1987). Untuk mengetahui adanya senyawa flavonoid dapat dideteksi dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT) yang akan menunjukkan warna kuning setelah diuapi dengan uap amoniak (Markham, 1988).

B. HIPOTESIS

Berdasarkan landasan teori, hipotesis yang diajukan dalam penelitian adalah:

1. Fraksi etil asetat ekstrak etanol daun cabai merah besar (*Capsicum annum* L.) mengandung senyawa flavonoid dengan metode KLT (kromatografi lapis tipis).

2. Fraksi etil asetat ekstrak etanol daun cabai merah besar (*Capsicum annum* L.) memiliki aktivitas antioksidan yang ditunjukkan nilai IC_{50} dengan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*).

