

**EFEK ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL 70% DAUN SALAM
(*Syzygium polyanthum* [Wight.] Walp.) PADA SERUM DARAH
TIKUS PUTIH JANTAN GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI
KARBON TETRAKLORIDA (CCl₄)**

SKRIPSI



Oleh :

**RONY INDRAYANA
K 100 040 234**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
SURAKARTA**

2008

BAB 1

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Dunia kesehatan saat ini semakin menaruh perhatian terhadap radikal bebas. Hal ini dikarenakan semakin banyak bukti ilmiah yang mengindikasikan bahwa radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan DNA yang dapat menimbulkan berbagai penyakit seperti diabetes dan kanker. Kerusakan DNA ini juga menyebabkan gangguan sistem respon imun dan inflamasi jaringan (Desmarchelier *et al*, 2005).

Radikal bebas merupakan molekul atau atom apa saja yang tidak stabil karena memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Radikal bebas ini berbahaya karena amat reaktif mencari pasangan elektronnya. Radikal bebas yang terbentuk dalam tubuh akan menghasilkan radikal bebas yang baru melalui reaksi berantai yang akhirnya jumlahnya terus bertambah. Selanjutnya menyerang sel-sel tubuh sehingga akan terjadi kerusakan jaringan (Sibuea, 2004). Tubuh secara terus-menerus membentuk radikal oksigen dan spesies reaktif lainnya, terutama dihasilkan oleh netrofil, makrofag dan sistem xantin oksidase (Khlifi *et al*, 2005). Radikal bebas ini dibentuk melalui mekanisme metabolisme normal (Desmarchelier *et al*, 2005). Senyawa radikal bebas tersebut timbul akibat berbagai proses kimia kompleks dalam tubuh, berupa hasil sampingan dari proses oksidasi atau pembakaran sel yang berlangsung pada waktu bernapas, metabolisme sel, olahraga yang berlebihan, peradangan atau ketika tubuh terpapar polusi lingkungan seperti asap kendaraan

bermotor, asap rokok, bahan pencemar, dan radiasi matahari atau radiasi kosmis (Karyadi, 1997). Makanan tertentu seperti makanan cepat saji (*fastfood*), makanan kemasan, makanan kalengan juga berpotensi meninggalkan racun dalam tubuh karena kandungan lemak, pengawet serta sumber radikal bebas (Sibuea, 2004).

Tubuh memerlukan antioksidan yang dapat membantu melindungi tubuh dari serangan radikal bebas dengan meredam dampak negatif senyawa ini. Vitamin C dan vitamin E telah digunakan secara luas sebagai antioksidan karena lebih aman dan efek samping yang ditimbulkan lebih kecil dibandingkan antioksidan sintetik. Antioksidan sintetik seperti BHA (*butil hidroksi anisol*) dan BHT (*butil hidroksi toluen*) memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan vitamin C dan vitamin E (Han *et al.*, 2004), tetapi antioksidan sintesis ini dapat menimbulkan karsinogenesis (Kikuzaki *et al.*, 2002). Antioksidan dari tumbuhan dapat menghalangi kerusakan oksidatif melalui reduksi dengan radikal bebas, membentuk kelat dengan senyawa logam katalitik, dan menangkap oksigen (Khlifi *et al.*, 2005). Oleh karena itu diperlukan eksplorasi antioksidan alami untuk mendapatkan antioksidan dengan tingkat keamanan dan aktivitas yang tinggi.

Daun salam (*Syzygium polyanthum* [Wight.] Walp.) mengandung minyak atsiri (sitral dan eugenol), tanin dan flavonoid (Dalimartha, 2003). Komponen fenolik yang terdapat dalam tumbuhan memiliki kemampuan mereduksi yang berperan penting dalam menyerap dan menetralkan radikal bebas, dan dekomposisi peroksid (Javanmardi, 2003).

Secara empiris daun salam digunakan oleh masyarakat untuk pengobatan pada penyakit kolesterol tinggi, kencing manis, hipertensi, gastritis dan diare

(Dalimartha, 2003). Alasan pemilihan daun salam karena pada penelitian sebelumnya menyatakan bahwa ekstrak etanol daun salam dapat menurunkan kadar glukosa darah, 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). Alasan lain, daun salam (*Syzygium polyanthum*) merupakan tanaman satu genus dengan daun dewandaru (*Eugenia uniflora* dengan sinonim *Syzygium uniflora*) yang menurut penelitian daun dewandaru memiliki aktivitas sebagai antioksidan secara *in vitro*, dengan mekanisme kerja menangkap radikal bebas. Hasil penelitian tersebut menunjukkan aktivitas penangkap radikal pada ekstrak etanol, etil asetat dan kloroform dengan nilai IC₅₀ berturut-turut 8,87; 12,01; dan 53,30 µg/ml (Utami dkk, 2005). Penelitian lain juga menyatakan bahwa daun dewandaru (*Eugenia uniflora* Linn.) memiliki aktivitas menangkap radikal bebas dengan nilai IC₅₀ ekstrak heksana, kloroform, etil asetat dan air masing-masing 13,0; 21,4; 1,3; dan 7,0 µg/ml (Velaquez *et al.*, 2003). Penelitian lain menyatakan infusa daun salam (*Syzygium polyantha* Wight.) mempunyai aktivitas menurunkan kadar asam urat darah pada mencit putih jantan yang diinduksi dengan *potasium oxonate* dosis 300 mg/kgBB. Infusa daun salam dosis 1,25g/kgBB, 2,5 g/kgBB dan 5,0 g/kgBB mampu menurunkan kadar asam urat darah mencit jantan berturut-turut sebesar 54,30%, 76,22% dan 76,54%. Kemungkinan kandungan flavonoid dari daun salam dapat menurunkan kadar asam urat dalam serum darah mencit, karena flavonoid mempunyai aktifitas sebagai antioksidan yang dapat

menghambat kerja enzim *xantin oksidase* sehingga pembentukan asam urat terhambat (Ariyanti, 2003).

Oleh sebab itu, perlu dibuktikan apakah daun salam yang satu genus dengan daun dewandaru juga memiliki efek sebagai antioksidan, dibuktikan dengan efek antioksidan daun salam terhadap CCl_4 yang merupakan penyebab kerusakan sel.

B. Perumusan Masalah

Permasalahan yang ingin dipecahkan dalam penelitian ini adalah:

Apakah ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum* [Wight.] Walp.) pada dosis tunggal dan berulang mempunyai aktivitas sebagai antioksidan secara *in vivo* pada serum darah tikus putih jantan galur Wistar yang diinduksi karbon tetraklorida (CCl_4)?

C. Tujuan Penelitian

1. Membuktikan adanya efek antioksidan ekstrak etanol 70% daun salam dosis tunggal pada serum darah tikus putih jantan galur Wistar yang diinduksi dengan karbon tetraklorida.
2. Membuktikan adanya efek antioksidan ekstrak etanol 70% daun salam dosis berulang pada serum darah tikus putih jantan galur Wistar yang diinduksi dengan karbon tetraklorida.

D. Tinjauan Pustaka

1. **Tanaman Salam** (*Syzygium polyanthum* [Wight.] Walp.)

a. Sistematika tanaman

<i>Divisio</i>	: Spermatophyta
<i>Subdivisio</i>	: Angiospermae
<i>Class</i>	: Dicotyledoneae
<i>Ordo</i>	: Myrtales
<i>Familia</i>	: Myrtaceae
<i>Genus</i>	: Syzygium
<i>Species</i>	: <i>Syzygium polyanthum</i> (Wight) Walp.

(Backer and Van Den Brink, 1965).

b. Sinonim

Sinonim dari *Syzygium polyanthum* (Wight) Walp. adalah *Eugenia polyantha* Wight., *Eugenia lucidula* Miq. (Tjitrosoepomo, 2002).

c. Nama daerah

Meselanagan, ubar serai (Melayu), gowok (Sunda), manting, salam (Jawa), salam (Madura) (Dalimartha, 2003).

d. Morfologi tanaman

Salam tumbuh liar di hutan dan pegunungan, atau ditanam di pekarangan atau disekitar rumah. Tanaman ini dapat ditemukan di dataran rendah sampai 1400 m dpl.

Salam merupakan pohon dengan tinggi mencapai 25 m, batang bulat, permukaan licin, bertajuk rimbun dan berakar tunggang. Daun tunggal, letak berhadapan, panjang tangkai daun 0,5-1 cm. Helai daun berbentuk lonjong sampai elips atau bundar telur sungsang, ujung meruncing pangkal runcing, tepi rata, pertulangan menyirip, permukaan atas licin berwarna hijau tua, permukaan bawah

berwarna hijau muda, panjang 5-15 cm, lebar 3-8 cm, jika diremas berbau harum. Bunga majemuk yang tersusun dalam malai yang keluar dari ujung ranting, berwarna putih, baunya harum. Buahnya buah buni, bulat, diameter 8-9 mm, buah muda berwarna hijau, setelah masak menjadi merah gelap, rasanya agak sepat. Biji bulat, diameter sekitar 1 cm, berwarna coklat (Tjitrosoepomo, 2002).

e. Kandungan kimia

Daun salam mengandung saponin, triterpen, flavonoid, tanin, dan alkaloid. Minyak atsiri dalam daun salam terdiri dari seskuiterpen, lakton dan fenol (Soedarsono *et al.*, 2002).

f. Manfaat tanaman

Secara empiris daun salam digunakan untuk obat pada penyakit diabetes, jantung koroner, hipertensi, sakit maag dan diare (Dalimartha, 2003).

2. Radikal Bebas

a. Pengertian radikal bebas

Radikal bebas adalah atom atau gugus apa saja yang memiliki satu/lebih elektron yang tidak berpasangan yang dapat bertindak sebagai akseptor elektron (Zimmerman, 1978). Karena jumlah elektron ganjil, maka tidak semua elektron dapat berpasangan. Suatu radikal bebas tidak bermuatan positif/negatif, maka spesi semacam ini sangat reaktif karena adanya elektron tidak berpasangan (Fessenden *and* Fessenden, 1986).

b. Sumber radikal bebas

Sumber radikal bebas dapat berasal dari dalam tubuh (*endogenous*) yang terbentuk sebagai sisa proses metabolisme (proses pembakaran) protein atau

karbohidrat dan lemak yang kita konsumsi. Radikal bebas dapat pula diperoleh dari luar tubuh (*eksogenous*) yang berasal dari polusi udara, asap kendaraan bermotor, asap rokok, berbagai bahan kimia, makanan yang terlalu hangus (*carbonated*) dan lain sebagainya. Beberapa contoh radikal bebas antara lain: anion superoksida ($2O_2^\bullet$), radikal hidroksil (OH^\bullet), nitrit oksida (NO^\bullet), hidrogen peroksida (H_2O_2) dan sebagainya (Windono dkk, 2000). Radikal bebas yang terbentuk di dalam tubuh akan merusak beberapa target seperti lemak, protein, karbohidrat dan DNA (Halliwell *et al.*, 1995).

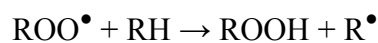
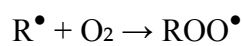
Anion superoksida adalah salah satu jenis radikal bebas. Radikal ini sering terbentuk di dalam reaksi oksidasi sel (agen oksidasi). Radikal superoksid dapat memproduksi jenis radikal bebas lainnya (Wang *et al.*, 2003).

c. Mekanisme pembentukan radikal bebas

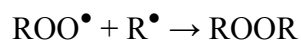
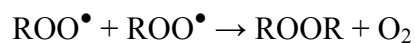
Reaksi pembentukan radikal bebas merupakan mekanisme biokimia tubuh normal yang terjadi melalui reaksi yang langsung memutuskan ikatan atau melalui transfer elektron (Halliwell *and* Guttridge, 2000). Radikal bebas lazimnya hanya bersifat perantara yang bisa dengan cepat diubah menjadi substansi yang tidak lagi membahayakan bagi tubuh. Namun, apabila radikal bebas bertemu dengan enzim atau asam lemak tak jenuh ganda, maka merupakan awal dari kerusakan sel. Radikal mampu menarik atom hidrogen dari suatu molekul disekitarnya. Pengaruh radiasi ionisasi terhadap materi biologi akan menghasilkan radikal bebas hidroksil dan radikal bebas lainnya, seperti radikal hidrogen yang siap berinteraksi dengan biomolekul-biomolekul lain yang saling berdekatan (Middleton *et al.*, 2000).

Reaksi oksidasi lipid berlangsung dalam tiga tahap, yang pertama adalah inisiasi yang mana suatu radikal lipid terbentuk dari molekul lipid menurut reaksi $RH \rightarrow R^\bullet + H^\bullet$. Pengurangan atom hidrogen oleh spesies reaktif seperti radikal hidroksil berperan dalam inisiasi oksidasi lipid.

Setelah inisiasi, reaksi propagasi (perambatan) terjadi yang mana dalam reaksi propagasi ini radikal lipid diubah menjadi radikal lipid yang berbeda. Reaksi ini umumnya melibatkan pengurangan atom hidrogen dari molekul lipid atau penambahan atom oksigen pada radikal alkil.



Tahap terakhir adalah reaksi terminasi. Dalam reaksi ini radikal bebas bergabung untuk membentuk molekul dengan elektron berpasangan.



Prekursor molekular untuk memulai proses tersebut umumnya merupakan produk hidroperoksida, sehingga peroksidasi lipid menyebabkan reaksi rantai dengan berbagai efek yang potensial merusak sel-sel tubuh (Pokorni *et al.*, 2001).

3. Karbon Tetraklorida

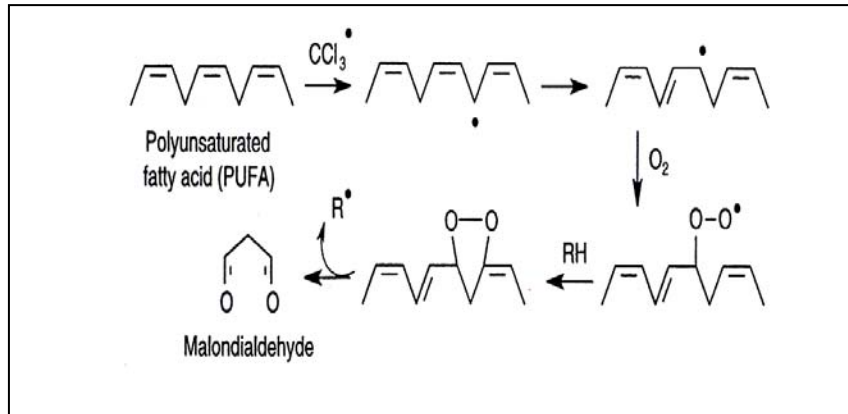
Karbon tetraklorida (CCl_4) adalah cairan yang mudah terbakar, jernih, tidak berwarna, sifat pelarutnya sama dengan kloroform. Dapat bercampur dengan alkohol, eter, benzen dan pelarut organik lainnya, tetapi praktis tidak larut dalam air. Harus disimpan dalam wadah tertutup dan kedap cahaya (Doerge, 1982).

Pertama kali dibuat tahun 1849 dan digunakan untuk anestesi, shampo kering dan obat cacung. Namun kegunaan dalam rumah tangga telah ditinggalkan karena toksisitasnya yang hebat dan hanya digunakan untuk industri, ilmu pengetahuan, dan penggunaan non rumah tangga (Klassen, 2001).

Ingesti CCl_4 secara oral dengan mudah diabsorpsi dari traktus gastrointestinal, berlangsung secara lambat dan tidak mudah diramalkan. Absorpsi ini mengalami peningkatan jika bersamaan dengan ingesti lemak dan alkohol (Fauci *et al.*, 1998). CCl_4 dihimpun secara besar-besaran dalam lemak tubuh, hati, dan sumsum tulang belakang. Pada hewan percobaan, penghirupan CCl_4 diekskresikan dalam 2-3 bulan, sekitar setengahnya hilang karena penguapan dan sisanya dikeluarkan sebagai urea dan metabolit lain dalam urin dan *feces* (Klassen, 2001).

CCl_4 diaktifkan oleh enzim sitokrom P-450 menjadi radikal bebas yang reaktivitasnya tinggi. Pertama, CCl_4 diubah menjadi bentuk radikal triklorometil (CCl_3^\bullet) dan kemudian menjadi radikal triklorometil peroksi ($\text{CCl}_3\text{O}_2^\bullet$) yang sangat reaktif. Radikal ini dapat mengakibatkan peroksidasi PUFA (*poly unsaturated fatty acid*) yang terdapat pada membran sel, sehingga menyebabkan kerusakan pada sel (Hodgson *and* Levi, 2002). Produk utama dari peroksidasi PUFA diproduksi melalui mekanisme radikal bebas. Proses ini diawali dengan inisiasi yang meliputi pengambilan atom H dari PUFA oleh oksigen bebas yang terdapat pada $\text{CCl}_3\text{O}_2^\bullet$. Stabilitas bentuk dari produk awal ini ditentukan oleh energi disosiasi ikatan antara C-H. Ikatan ganda metilen pada PUFA lebih mudah teroksidasi daripada ikatan pada *monosaturated fatty acid*. Reaksi selanjutnya adalah propagasi antara *pentadienil* radikal dengan atom oksigen. Hasil dari reaksi ini akan menjadi inisiator baru untuk

bereaksi dengan PUFA yang lain sehingga menghasilkan produk radikal baru. Langkah selanjutnya adalah reaksi terminasi, yaitu kombinasi dua radikal menjadi suatu produk non radikal. Mekanisme peroksidasi PUFA dapat dilihat pada gambar 1.

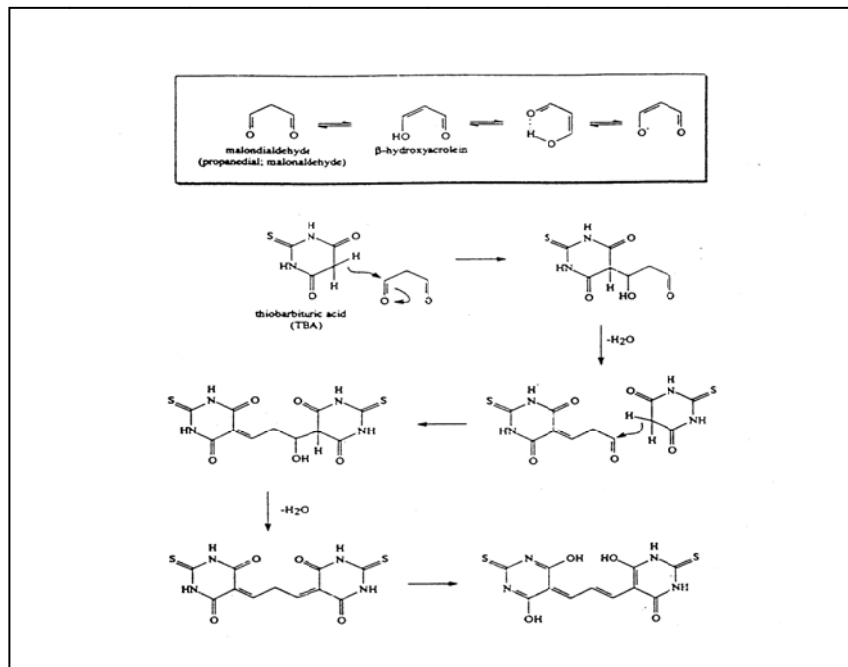


Gambar 1. Mekanisme Peroksidasi PUFA (Hodgson and Levi, 2002)

Peroksidasi PUFA tidak berhenti sampai disini, menurut penelitian masih ada metabolit sekunder yang dihasilkan setelah peroksidasi PUFA. Salah satunya adalah *malondialdehyde* (*malonaldehyde*, *propanedial*, MDA) yang merupakan hasil akhir dari peroksidasi asam arakidonat dan beberapa PUFA yang lain (Josephy, 1997).

Pengukuran kinetika peroksidasi lipid secara *in vitro* dapat dilakukan dengan mengukur berapa banyak oksigen yang dibutuhkan. Ada beberapa metode yang dapat digunakan, salah satunya TBA (*Thiobarbituric acid*) *reactivity test*, yang dapat dilakukan baik secara *in vivo* maupun *in vitro*. 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. Jumlah MDA yang terdeteksi menggambarkan banyaknya peroksidasi lipid

yang terjadi (Josephy, 1997). Mekanisme pembentukan kompleks antara MDA dan TBA dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Mekanisme Reaksi antara TBA dan MDA (Josephy, 1997)

4. Antioksidan

a. Pengertian antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat spesies oksigen reaktif/spesies nitrogen reaktif dan juga radikal bebas sehingga antioksidan dapat mencegah penyakit-penyakit yang dihubungkan dengan radikal bebas seperti kanker, kardiovaskuler, dan penuaan (Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C, 2000).

b. Penggolongan antioksidan

Tubuh memiliki sistem pertahanan internal terhadap radikal bebas. Sistem pertahanan tersebut dikelompokkan menjadi 3 golongan:

- 1) Antioksidan primer, (antioksidan endogen/antioksidan enzimatis). Contohnya *superoksida dismutase* (SOD), katalase dan *glutation peroksidase*. Enzim-enzim

ini mampu menekan atau menghambat pembentukan radikal bebas dengan cara memutus reaksi berantai dan mengubahnya menjadi produk lebih stabil. Reaksi ini disebut sebagai *chain-breaking-antioxidant*.

- 2) Antioksidan sekunder (antioksidan eksogen atau antioksidan non enzimatis). Contoh antioksidan sekunder ialah vitamin E, vitamin C, β -karoten, isoflavon, asam urat, bilirubin, dan albumin. Senyawa-senyawa ini dikenal sebagai penangkap radikal bebas (*scavenger free radical*).
- 3) Antioksidan tersier, misalnya enzim DNA-repair dan metionin sulfoksida reduktase yang berperan dalam perbaikan biomolekul yang dirusak oleh radikal bebas (Winarsi, 2005).

Senyawa antioksidan sintesis seperti *butil hidroksi anisol* (BHA) dan *butil hidroksi toluen* (BHT) bukan merupakan solusi untuk kontrol positif yang baik, sebab pada pemaparan yang lama diketahui dapat mempengaruhi genetika sel-sel tubuh (Poormorad *et al.*, 2006).

c. Sumber antioksidan

Antioksidan sangat beragam jenisnya. Berdasarkan sumbernya antioksidan dibagi dalam dua kelompok, yaitu antioksidan sintetik (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia) dan antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alami).

1) Antioksidan sintetik

Diantara beberapa contoh antioksidan sintetik yang diijinkan untuk makanan, ada lima antioksidan yang penggunaannya meluas dan menyebar di seluruh dunia, yaitu *butil hidroksi anisol* (BHA), *butil hidroksi toluen* (BHT), *propil galat*, *tert-butil*

hidroksi quinon (TBHQ) dan *tokoferol*. Antioksidan tersebut merupakan antioksidan alami yang telah diproduksi secara sintesis untuk tujuan komersial (Pokorni *et al.*, 2001).

2) Antioksidan alami

Antioksidan alami di dalam makanan dapat berasal dari:

- a) Senyawa antioksidan yang sudah ada dari satu atau dua komponen makanan
- b) Senyawa antioksidan yang terbentuk dari reaksi-reaksi selama proses pengolahan
- c) Senyawa antioksidan yang diisolasi dari sumber alami dan ditambahkan ke makanan.

Kebanyakan senyawa antioksidan yang diisolasi dari sumber alami adalah berasal dari tumbuhan. Kingdom tumbuhan, Angiosperm memiliki kira-kira 200.000 sampai 300.000 spesies dan dari jumlah ini kurang lebih 400 spesies yang telah dikenal dapat menjadi bahan pangan manusia. Isolasi antioksidan alami telah dilakukan dari tumbuhan yang dapat dimakan, tetapi tidak selalu dari bagian yang dapat dimakan. Antioksidan alami terbesar di beberapa bagian tanaman, seperti pada kayu, kulit kayu, akar, daun, buah, biji, dan serbuk sari (Pokorni *et al.*, 2001).

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, flavonol dan kalkon. Sementara turunan asam sinamat meliputi asam kafeat, asam ferulat, asam

klorogenat, dan lain-lain. Senyawa antioksidan polifenolik ini adalah multifungsional dan dapat bereaksi sebagai:

- a) Pereduksi
- b) Penangkap radikal bebas
- c) Pengkelat logam
- d) Peredam terbentuknya singlet oksigen

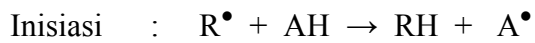
Kira-kira 2% dari seluruh karbon yang difotosintesis oleh tumbuhan diubah menjadi flavonoid atau senyawa yang berkaitan erat dengannya, sehingga flavonoid merupakan salah satu golongan fenol alam terbesar. Lebih lanjut disebutkan bahwa sebenarnya flavonoid terdapat dalam semua tumbuhan hijau, sehingga pastilah ditemukan pula pada setiap telaah ekstrak tumbuhan. Kebanyakan dari golongan dan senyawa yang berkaitan erat dengannya memiliki sifat-sifat antioksidan baik di dalam lipida cair maupun dalam makanan berlipida (Pokorni *et al.*, 2001).

d. Mekanisme kerja antioksidan

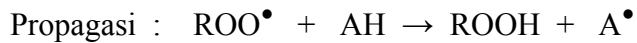
Oksidasi dapat dihambat oleh berbagai macam cara diantaranya mencegah masuknya oksigen, penggunaan temperatur yang rendah, inaktivasi enzim yang mengkatalis oksidasi, mengurangi tekanan oksigen dan penggunaan pengemas yang sesuai. Cara lain untuk melindungi terhadap oksigen adalah dengan menggunakan bahan tambahan spesifik yang dapat menghambat oksidasi yang secara tepat disebut dengan penghambat oksidasi (*oxidation inhibitor*), tetapi baru-baru ini lebih sering disebut antioksidan (Pokorni *et al.*, 2001).

Penambahan antioksidan primer dengan konsentrasi rendah pada lipida dapat menghambat atau mencegah reaksi autoksidasi. Reaksi tersebut relatif stabil dan

tidak mempunyai cukup energi untuk dapat bereaksi dengan molekul lipida lain membentuk radikal lipida baru.



Radikal lipida



Mekanisme yang paling penting adalah reaksi antara antioksidan dengan radikal bebas (Gordon, 1990). Biasanya antioksidan bereaksi dengan radikal bebas peroksil atau hidroksil yang terbentuk dari hidroperoksida yang berasal dari lipid. Senyawa antioksidan lain dapat menstabilkan hidroperoksida menjadi senyawa non radikal. Peruraian hidroperoksida dapat dikatalisis oleh logam berat akibatnya senyawa-senyawa dapat mengkelat logam juga termasuk antioksidan. Beberapa senyawa disebut sinergis karena senyawa tersebut dengan sendirinya tidak mempunyai aktivitas antioksidan akan tetapi senyawa tersebut dapat meningkatkan aktivitas antioksidan senyawa lain. Kelompok lain adalah senyawa-senyawa yang mampu menguraikan hidroperoksida melalui jalur non radikal sehingga senyawa ini dapat mengurangi kandungan radikal bebas (Pokorni *et al.*, 2001).

5. Ekstraksi

Ekstraksi adalah penarikan zat pokok yang diinginkan dari bahan mentah obat dan menggunakan pelarut yang dipilih dimana zat yang diinginkan dapat larut. Bahan mentah obat yang berasal dari tumbuh-tumbuhan ataupun hewan tidak perlu diproses lebih lanjut kecuali dikumpulkan atau dikeringkan. Tiap-tiap bahan mentah obat disebut ekstrak, tidak mengandung hanya satu unsur saja tetapi berbagai unsur, tergantung pada obat yang digunakan dan kondisi dari ekstraksi (Ansel, 1989).

Ekstraksi atau penyarian merupakan peristiwa perpindahan masa zat aktif yang semula berada dalam sel, ditarik oleh cairan penyari. Pada umumnya penyarian akan bertambah baik bila permukaan serbuk simplisia yang bersentuhan semakin luas (Ansel, 1989).

Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair yang dibuat dengan cara menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok, diluar pengaruh cahaya matahari langsung (Anonim, 1979). Ekstrak merupakan sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif simplisia nabati dan hewani menggunakan pelarut yang sesuai kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan (Anonim, 1995).

Sistem pelarut yang digunakan dalam ekstraksi harus dipilih berdasarkan kemampuannya dalam melarutkan jumlah yang maksimum dari zat aktif dan seminimal mungkin bagi unsur yang tidak diinginkan (Ansel, 1989). Kriteria cairan penyari yang baik haruslah memenuhi syarat antara lain:

- a. Murah dan mudah diperoleh
- b. Stabil secara fisika dan kimia
- c. Bereaksi netral
- d. Tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar
- e. Selektif yaitu hanya menarik zat yang berkhasiat yang dikehendaki
- f. Tidak mempengaruhi zat yang berkhasiat
- g. Diperbolehkan oleh peraturan

(Anonim, 1986).

Etanol 70% adalah campuran dua bahan pelarut yaitu etanol dan air dengan kadar etanol 70% (v/v). Etanol tidak menyebabkan pembengkakan pada membran sel dan memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut. Keuntungan lainnya adalah sifatnya yang mampu mengendapkan albumin dan menghambat kerja enzim. Etanol 70% sangat efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal (Voight, 1984).

Maserasi (*macerace* = mengairi, melunakkan) adalah cara ekstraksi yang paling sederhana. Bahan simplisia yang dihaluskan sesuai syarat-syarat farmakope (umumnya terpotong-potong atau berupa serbuk kasar) disatukan dengan bahan pengestraksi. Selanjutnya rendaman tersebut disimpan terlindungi dari cahaya langsung (mencegah reaksi yang dikatalisis cahaya atau perubahan warna) dan dikocok 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 pengocokan dijamin keseimbangan konsentrasi bahan ekstraksi lebih cepat dalam cairan. Keadaan diam selama maserasi tidak memungkinkan terjadinya ekstraksi absolut. Semakin besar perbandingan simplisia terhadap cairan pengestraksi, akan semakin banyak yang diperoleh (Voight, 1984).

Cairan penyari yang digunakan dapat berupa air, etanol, air-etanol atau pelarut lain. Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan. Sedangkan kerugian dari maserasi adalah pengerjaannya lama dan penyariannya kurang sempurna (Anonim, 1986).

Maserasi umumnya dilakukan dengan cara 10 bagian simplisia dengan derajat halus yang cocok dimasukkan dalam bejana, kemudian dituangi dengan 75 bagian cairan penyari, ditutup dan dibiarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya, sambil berulang-ulang diaduk. Hasil penyarian dengan maserasi perlu dibiarkan selama waktu tertentu. Waktu tersebut diperlukan untuk mengendapkan zat-zat yang tidak diperlukan tetapi ikut terlarut dalam cairan penyari seperti malam dan lain-lain (Anonim, 1986).

E. Keterangan Empiris

Diharapkan dari penelitian ini didapatkan data ilmiah tentang efek antioksidan ekstrak etanol 70% daun salam (*Syzygium polyanthum* [Wight.] Walp.) dosis tunggal dan dosis berulang pada tikus putih jantan galur Wistar yang diinduksi karbon tetraklorida (CCl₄).