

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Penelitian Terdahulu**

Penelitian yang dilakukan oleh Yuniwarti *et al.* (2018), minyak buah merah, *olive oil*, VCO, dan minyak wijen direaksikan dengan larutan DPPH radikal 0,004% dalam etanol 95% dan diinkubasi pada ruang gelap serta suhu ruang selama 30 menit. Panjang gelombang yang digunakan pada pengukuran absorbansi yaitu 520 nm. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa antioksidan dari yang paling kuat ke lemah berturut turut adalah *olive oil*, VCO, minyak wijen, dan minyak buah merah.

VCO merupakan obat herbal yang mampu menunjukkan peningkatan aktivitas fagositosis makrofag (Yuniwarti *et al.*, 2013) dan juga mampu meningkatkan jumlah limfosit (Yuniwarti *et al.*, 2012). VCO mengandung fenol dan triasilgliserol (Marina *et al.*, 2009) sehingga mampu berperan sebagai antioksidan (Nevin dan Rajamohan, 2006).

#### **B. Landasan Teori**

##### **1. Kulit**

Kulit merupakan pembungkus yang elastis yang terletak paling luar yang melindungi tubuh dari pengaruh lingkungan hidup manusia dan merupakan alat tubuh yang terberat dan terluas ukurannya, yaitu kira-kira 15% dari berat tubuh dan luas kulit orang dewasa (1,5 m<sup>2</sup>). Kulit sangat kompleks, elastis dan sensitif, serta sangat bervariasi pada keadaan iklim, umur, seks, ras, dan juga bergantung pada lokasi tubuh serta memiliki variasi mengenai lembut, tipis, dan tebalnya. Rata-rata tebal kulit 1-2 mm. Paling tebal (6 mm) terdapat di telapak tangan dan kaki dan paling tipis (0,5 mm) terdapat di penis. Kulit merupakan organ yang vital dan esensial serta merupakan cermin kesehatan dan kehidupan (Djuanda, 1999).

Menurut Djuanda (1999) pembagian kulit secara garis besar tersusun atas tiga lapisan utama, yaitu:

- a. Lapisan epidermis, lapisan epidermis terdiri atas : stratum korneum (lapisan tanduk), stratum lusidum, stratum granulosum (lapisan keratohialin), stratum spinosum (stratum malphigi), dan stratum basal.
- b. Lapisan dermis, lapisan dermis adalah lapisan di bawah epidermis yang jauh lebih tebal daripada epidermis. Secara garis besar lapisan dermis dibagi menjadi dua, yaitu *pars papillare* dan *pars retikulare*.
- c. Lapisan subkutis, jaringan subkutis merupakan lapisan yang langsung dibawah dermis. Batas antara jaringan subkutis dan dermis tidak tegas. Ujung-ujung saraf tepi, pembuluh darah. Lapisan subkutis terdiri atas jaringan ikat longgar berisi sel-sel lemak di dalamnya. Lapisan sel-sel lemak berfungsi sebagai cadangan makanan. Di lapisan ini terdapat ujung-ujung saraf tepi, pembuluh darah, dan getah bening.

## 2. Radikal bebas

Oksigen adalah atom yang sangat reaktif yang mampu menjadi bagian dari molekul yang berpotensi merusak yang biasa disebut radikal bebas. Radikal bebas mampu menyerang sel-sel sehat dalam tubuh menyebabkan mereka kehilangan struktur dan fungsinya (Percival, 1998). Radikal bebas adalah suatu atom atau molekul yang sangat reaktif dengan elektron tidak memiliki pasangan (Corwin dan Elizabeth, 2001). Radikal bebas mencari reaksi-reaksi agar dapat memperoleh kembali elektron pasangannya. Radikal bebas sangat reaktif, secara kimia tidak stabil, umumnya terdapat hanya dalam kadar yang kecil, dan cenderung ikut serta atau mengawali reaksi rantai. Serangkaian reaksi yang terjadi, dapat menghasilkan radikal bebas. Setelah itu, radikal bebas dapat mengalami tubrukan kaya energi dengan molekul lain yang dapat merusak ikatan dalam molekul (Corwin dan Elizabeth, 2001). Ketika hal tersebut terjadi di dalam tubuh, maka dapat terjadi kerusakan pada sel, asam nukleat, protein dan lemak dikarenakan serangan terhadap molekul biologi akan menyebabkan kerusakan jaringan sistem imun. Radikal bebas menyebabkan kerusakan oksidatif dari minyak dan lemak yang mengandung ikatan karbon-karbon rangkap yang dapat mempermudah proses penuaan (Vimala *et al.*, 2003).

Radikal bebas adalah sekelompok elemen dalam tubuh yang mempunyai elektron yang tidak berpasangan sehingga tidak stabil dan reaktif hebat. Sebelum memiliki pasangan, radikal bebas akan terus menerus menghantam sel-sel tubuh guna mendapatkan pasangannya termasuk menyerang sel-sel tubuh yang normal. Teori ini mengemukakan bahwa terbentuknya gugus radikal bebas (*hydroxyl, superoxide, hydrogen peroxide*, dan sebagainya) adalah akibat terjadinya otoolsidasi dari molekul intraselular karena pengaruh sinar UV. Radikal bebas ini akan merusak enzim superoksida-dismutase (SOD) yang berfungsi mempertahankan fungsi sel sehingga fungsi sel menurun dan menjadi rusak. Proses penuaan pada kulit yang dipicu oleh sinar UV (*photoaging*) merupakan salah satu bentuk implementasi dari teori ini (Cunningham, 2003; Yaar dan Gilchrest, 2007).

Para ahli biokimia menyebutkan bahwa radikal bebas merupakan salah satu bentuk senyawa oksigen reaktif. Senyawa ini terbentuk di dalam tubuh, dipicu oleh bermacam-macam faktor. Radikal bebas bisa terbentuk misalnya ketika komponen makanan diubah menjadi bentuk energi melalui proses metabolisme. Pada proses metabolisme ini seringkali terjadi kebocoran elektron dan mudah terbentuknya radikal bebas, misalnya hidrogen peroksida (Winarsi, 2007).

### **3. Tabir Surya**

Suatu tabir surya mengandung senyawa yang dapat melindungi kulit dari pengaruh buruk sinar ultraviolet (UV) dimana mekanisme kerjanya dapat dibagi menjadi dua yaitu secara fisik yaitu memantulkan dan membiaskan sinar UV yang mengenai kulit dan secara kimia dengan cara menyerap sinar UV yang dipancarkan matahari (Prasiddha *et al.*, 2016). Sinar UV adalah bagian dari sinar matahari yang merupakan suatu gelombang elektromagnetik yang secara umum terbagi ke dalam 3 kategori berdasarkan panjang gelombang, yaitu: UVA (320-400 nm), UVB (280-320 nm), dan UVC (200-280 nm).

Paparan sinar UV pada kulit menyebabkan terbentuknya *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan *Reactive Nitrogen Species* (RNS). ROS yang dominan terbentuk adalah radikal hidroksil, anion superoksida, dan radikal peroksil dan prekursor aktif oksigen singlet dan hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), sedang RNS yang terbentuk adalah nitrit oksida dan nitrit dioksida. Banyaknya radikal bebas tersebut dapat menyebabkan kerusakan pada struktur dan fungsi sel yang menjadikan sel kehilangan integritasnya (Saewan and Jimtaisong, 2013). Radiasi UV dalam jumlah kecil bermanfaat untuk sintesis vitamin D dalam tubuh, tetapi paparan yang berlebihan dapat menyebabkan *sunburn* dan efek berbahaya yaitu sintesis radikal bebas yang memicu eritema dan katarak. Saat sinar UV menerpa suatu benda terus-menerus, elektron atom benda tersebut akan meloncat dari orbitnya yang menyebabkan terbentuknya radikal bebas. Sinar UVB juga dapat menyebabkan kerusakan fotokimia pada DNA sel sehingga memicu pertumbuhan kanker kulit (kaur dan saraf, 2009)

Senyawa dalam tabir surya mampu melindungi kulit karena adanya ikatan yang dapat saling berkonjugasi sehingga ikatan tersebut akan beresonansi saat terpapar sinar UV sehingga akan menurunkan energi dan bersifat melindungi kulit. Contoh senyawa yang biasa digunakan dalam tabir surya antara lain: turunan salisilat, turunan sinamat, *phenylbenzimidazole sulfonic acid* (PBSA). Senyawa dari turunan alkil sinamat dalam tabir surya memiliki kemampuan dalam menyerap sinar UV dikarenakan adanya ikatan konjugasi pada gugus fungsi benzena dan gugus fungsi karbonil (handayani dan arty, 2009). Mekanisme proteksi tabir surya terhadap kulit dijelaskan sebagai berikut: molekul bahan kimia tabir surya yang menyerap energi dari sinar UV, kemudian mengalami eksitasi dari *ground state* ke tingkat energi yang lebih tinggi. Sewaktu molekul yang tereksitasi kembali ke kedudukan yang lebih rendah, akan melepaskan energi yang lebih rendah dari energi semula yang diserap untuk menyebabkan eksitasi. Maka sinar UV dari energi yang lebih tinggi setelah diserap energinya oleh bahan kimia maka akan mempunyai energi

yang lebih rendah. Sinar UV dengan energi yang lebih rendah akan kurang atau tidak menyebabkan efek *sunburn* pada kulit (Lavi, 2013).

Zat alami yang diekstrak dari tumbuhan dapat pula bertindak sebagai sumber potensial karena bersifat *photoprotective*. Hal ini dikaitkan dengan kenyataan bahwa tanaman tidak bisa terhindar dari paparan sinar matahari karena tanaman memerlukan sinar matahari untuk proses fotosintesis. Meskipun begitu, tanaman memiliki mekanisme perlindungan diri sehingga tanaman tidak mengalami kerusakan. Hal tersebut memberikan sedikit gambaran mengenai kemampuan tanaman untuk melindungi kulit melalui senyawa yang terkandung di dalam tanaman yang berupa senyawa bioaktif seperti senyawa fenolik dan didukung oleh adanya senyawa yang bersifat antioksidan.

#### 4. Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang bertugas untuk menetralkan peningkatan radikal bebas, melindungi sel dari efek toksik yang dihasilkan serta berkontribusi dalam pencegahan penyakit (Pham-Huy *et al.*, 2008). Antioksidan dapat dibagi menjadi 2 jenis yaitu antioksidan endogen dan antioksidan eksogen. Yang termasuk antioksidan endogen adalah sistem enzim seperti *superoxide dismutase* (SOD), *catalase* (CAT), *glutathione peroxidase* (GPx), dan *glutathione reductase* (GRx). Sedangkan yang dimaksud antioksidan eksogen adalah antioksidan yang tidak dapat diproduksi oleh tubuh dan didapat melalui buah-buahan, sayur-sayuran, kacang-kacangan, biji-bijian, dan beberapa daging unggas dan ikan. Makanan-makanan tersebut mengandung vitamin E, vitamin C, beta karoten, dan flavonoid (Pham-Huy *et al.*, 2008; Kurniawan *et al.*, 2010).

Mekanisme kerja antioksidan secara umum adalah menghambat oksidasi lemak. Oksidasi lemak terdiri dari 3 tahap yaitu inisiasi, propagasi, dan terminasi (Wong, 1989). Pada tahap inisiasi terjadi pembentukan radikal asam lemak, yaitu suatu senyawa turunan asam lemak yang bersifat tidak stabil dan reaktif akibat dari hilangnya satu atom hidrogen (Reaksi 1). Pada tahap propagasi, radikal asam lemak akan

bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksi (Reaksi 2). Radikal peroksi lebih lanjut akan menyerang asam lemak menghasilkan hidroperoksida dan menghasilkan dan radikal asam lemak baru (Reaksi 3). Hidroperoksida yang terbentuk bersifat tidak stabil dan akan terdegradasi lebih lanjut menghasilkan senyawa-senyawa karbonil rantai pendek seperti aldehida dan keton yang berasal dari pemecahan makanan berlemak. Tanpa adanya antioksidan reaksi oksidasi lemak akan mengalami terminasi melalui reaksi antar radikal bebas membentuk kompleks bukan radikal (Reaksi 4) (Wong, 1989). Tahapan reaksi:



## 5. Sun Protection Factor (SPF)

SPF adalah pengukuran kuantitatif dari efektifitas formulasi tabir surya agar efektif dalam mencegah kulit terbakar dan kerusakan kulit lainnya (Bleasel, 1999). Penentuan aktivitas tabir surya berdasarkan nilai SPF dapat dilakukan secara *in vivo* dan *in vitro*. Pengujian SPF secara *in vivo* yaitu membandingkan energi ultraviolet untuk menghasilkan *Dosis Eritema Minimal* (DEM) pada kulit yang terlindungi terhadap energi untuk menghasilkan eritema minimal pada kulit tidak terlindungi, sedangkan pengujian *in vitro* nilai SPF dapat di tentukan dengan menggunakan metode spektrofotometri (Bambal *et al.*, 2011).

Aktivitas tabir surya ditentukan dari nilai SPF sampel yang dianalisis menggunakan spektro-fotometer UV-Vis. Penentuan nilai SPF melalui spektrofotometer UV-Vis dapat diketahui dari karakteristik serapan sampel tabir surya pada panjang gelombang 290-320 nm dengan interval 5 nm. Perhitungan nilai SPF menggunakan persamaan berikut (Mansur *et al.*, 1986):

$$SPF = CF \times \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \times I(\lambda) \times Abs(\lambda)$$

Keterangan:

CF : Faktor koreksi (10)

Abs : Absorbansi sampel

EE : Efektifitas eritema yg disebabkan sinar UV pada panjang gelombang  $\lambda$  nm

I : Intensitas sinar UV pada panjang gelombang  $\lambda$  nm

Nilai EE x I adalah suatu konstanta pada panjang gelombang 290-320 disajikan dalam Tabel 2.1 (Sayre *et al.*, 1979).

**Tabel 2.1. Nilai EE x I**

Panjang gelombang (nm)	EE x I
290	0,015
295	0,0817
300	0,2874
305	0,3278
310	0,1864
315	0,839
320	0,018

*Food and Drug Administration* Amerika Serikat (FDA) mengelompokkan keefektifan sediaan krim tabir surya dalam memberikan proteksi terhadap kulit (Tabel 2.2).

**Tabel 2.2. Keefektifan sediaan tabir Surya Berdasarkan Nilai SPF**

SPF	Kategori Proteksi Tabir Surya
2 – 4	Proteksi minimal
4 – 6	Proteksi sedang
6 – 8	Protesi ekstra
8 – 15	Proteksi maksimal
≥ 15	Proteksi ultra

## 6. Minyak Kelapa Murni

Minyak kelapa pada umumnya dibagi menjadi dua kategori yaitu minyak kelapa komersial yang telah di*Refined, Deodorized, Bleached* (RBD) dan VCO. Minyak kelapa komersial terbuat dari kopra (daging kelapa yang dijemur dibawah sinar matahari). Sesuai kondisinya, bahan ini relatif kotor dan mengandung bahan asing yang mempengaruhi hasil akhirnya. Bahan asing ini biasa berupa jamur, tanah, sampah, dan kotoran lainnya (Dede *et al.*, 2005). Saat ini, minyak kelapa dibuat dalam bentuk VCO.

VCO dibuat dari kelapa yang segar tanpa pemanasan dan bahan kimia. Selain itu, tidak melalui tahap pemurnian, pemucatan dan penghilang aroma. Biasanya, kelapa yang digunakan bukan kelapa hibrida, tetapi kelapa dalam atau kelapa liar sehingga kandungannya masih utuh dan tahan terhadap ketengikan (Sutarmi dan Rozaline, 2005). Keunggulan dari minyak ini menurut SNI adalah bau kelapa segar, tidak tengik, rasa normal, khas kelapa dan tidak berwarna (Setiaji dan Prayugo, 2006).

## 7. Krim

Krim adalah bentuk sediaan setengah padat, berupa emulsi yang mengandung air tidak kurang dari 60%, dan dimaksudkan untuk pemakaian luar (Depkes RI, 1979). Adapun pengertian lain menurut (Depkes RI, 1985), krim adalah sediaan setengah padat yang mengandung satu atau lebih bahan obat terlarut atau terdispersi dalam bahan dasar yang sesuai.

Berdasarkan beberapa definisi tersebut, secara ringkas, dapat disimpulkan bahwa krim merupakan obat yang digunakan sebagai obat luar yang dioleskan ke bagian kulit tubuh. Adapun definisi dari obat luar sendiri adalah obat yang pemakaiannya tidak melalui mulut (oral), kerongkongan, dan tidak melalui saluran pencernaan. Menurut definisi ini, yang termasuk obat luar adalah obat luka, obat kulit, obat hidung, obat mata, obat tetes telinga, obat wasir, injeksi, dan lain-lain.

Sebagai obat luar, krim harus memenuhi beberapa persyaratan berikut:

- a. Stabil selama masih dipakai untuk mengobati. Oleh karena itu, krim harus bebas dari inkompatibilitas.
- b. Stabil pada suhu kamar dan kelembaban yang ada di dalam kamar.
- c. Semua zat dalam keadaan halus dan seluruh produk menjadi lunak serta homogen.
- d. Mudah dipakai.

Umumnya, tipe emulsi adalah yang paling mudah dipakai dan dihilangkan dari kulit. Terdistribusi secara merata. Obat harus terdispersi merata melalui dasar krim padat atau cair pada penggunaannya. Krim terdiri dari emulsi minyak dalam air atau dispersi mikrokristal asam-asam lemak atau alkohol berantai panjang dalam air, yang dapat dicuci dengan air serta lebih ditujukan untuk pemakaian kosmetik dan estetika. Krim digolongkan menjadi dua tipe, yakni:

- 1) Tipe a/m, yaitu air terdispersi dalam minyak.

Contohnya, *cold cream*. *Cold cream* adalah sediaan kosmetik yang digunakan untuk memberikan rasa dingin dan nyaman pada kulit, sebagai krim pembersih, berwarna putih, dan bebas dari butiran. *Cold cream* mengandung *mineral oil* dalam jumlah besar.

- 2) Tipe m/a, yaitu minyak terdispersi dalam air.

Contohnya, *vanishing cream*. *Vanishing cream* adalah sediaan kosmetik yang digunakan untuk membersihkan, melembabkan, dan sebagai alas bedak. *Vanishing cream* juga digunakan sebagai pelembab (*moisturizing*) (Widodo, 2013).

Gejala-gejala yang menjadi indikator terjadinya kerusakan emulsi antara lain:

1. *Creaming*, merupakan proses pada emulsi dengan partikel yang kurang rapat cenderung ke atas permukaan sehingga terjadi pemisahan menjadi dua emulsi.
2. Flokulasi, merupakan penggabungan globul yang bergantung pada gaya tolak menolak elektrostatis (*zeta potential*).
3. Koalesen atau penggumpalan, merupakan proses dimana tetesan dua fase internal mendekat dan berkombinasi membentuk partikel yang lebih besar.
4. Inversi, merupakan peristiwa dimana fase eksternal menjadi fase internal atau sebaliknya.

## 8. Monografi bahan

Karakteristik bahan yang digunakan sebagai berikut:

### a. Setil alkohol

Setil alkohol adalah campuran alkohol padat, terutama terdiri dari stearylalkohol,  $C_{13}H_{38}O$ . Bentuk dari setil alkohol adalah butiran atau potongan, licin, putih, bau khas lemah, dan rasa tawar. Setil alkohol larut dalam etanol (95%) dan eter *P* tetapi sukar larut dalam air. Setil alkohol sebaiknya disimpan dalam wadah tertutup baik. Zat ini biasanya digunakan sebagai zat tambahan (Depkes RI, 1979).

### b. Asam Stearat

Asam stearat merupakan kristal padat warna putih, sedikit kekuningan, mengkilap, sedikit berbau dan berasa seperti lemak. Sangat larut dalam benzene,  $CCl_4$ , kloroform, dan eter; larut dalam etanol (95%), heksan dan propilen glikol, praktis tidak larut dalam air. Inkompaktibilitas dengan logam hidroksi, obat naproxen dan bahan pengoksidasi. Asam stearat memiliki beberapa sinonim yaitu *Acid cetylacetic*; *Crodacid*; *E570*; *Edernol*, dengan rumus molekul  $C_{18}H_{36}O_2$  dan memiliki berat molekul 284,47.

Asam stearat berfungsi sebagai bahan penstabil emulsi. Asam stearat dalam sediaan topical digunakan sebagai pembentuk emulsi

dengan konsentrasi kadar 1-20%. Sebagian dari asam stearat dinetralkan dengan alkalis atau TEA untuk memberikan tekstur krim yang elastik (Rowe *et al.*, 2009).

c. Mineral oil

Mineral oil adalah cairan berminyak, jernih, tidak berwarna, bebas atau praktis bebas dari fluoresensi. Dalam keadaan dingin, mineral oil tidak berbau dan jika dipanaskan akan berbau minyak tanah lemah. Mineral oil larut dalam minyak menguap, tidak bercampur dengan minyak jarak tetapi mineral oil tidak larut dalam air dan etanol (95%) (Depkes RI, 1995).

d. Tween 80

Tween 80 berbentuk cairan kental jernih seperti minyak, kuning, bau asam lemak. Tween 80 sukar larut dalam parafin cair tetapi larut dalam air dan dalam etanol (95%) (Depkes RI, 1979).

e. Gliserin

Gliserin berbentuk cairan seperti sirop, jernih, tidak berwarna, tidak berbau, manis diikuti rasa hangat higroskopik. Jika disimpan beberapa lama pada suhu rendah dapat memadat membentuk massa hablur tidak berwarna yang tidak melebur hingga suhu mencapai lebih kurang 20 °C. Gliserin dapat campur dengan air, dan dengan etanol (95%), praktis tidak larut dalam kloroform, dalam eter, dan dalam minyak lemak. Gliserin sebaiknya disimpan dalam wadah tertutup baik. Gliserin biasanya digunakan sebagai zat tambahan (Depkes RI., 1979).

f. Metil Paraben (nipagin)

Metil paraben berbentuk serbuk hablur halus, putih hampir tidak berbau, tidak mempunyai rasa, kemudian agak membakar diikuti rasa tebal. Metil paraben larut dalam 500 bagian air, dalam 20 bagian air mendidih, dalam 5-10 bagian etanol (95%) *p*, dan dalam 3 bagian aseton *p*, mudah larut dalam eter *p* dan dalam larutan alkali hidroksida, larut dalam 60 bagian gliserol *p* panas dan dalam 40 bagian minyak lemak nabati panas, jika didinginkan larutan tetap jernih. Biasanya digunakan sebagai zat tambahan dan zat pengawet (Depkes RI, 1979).

g. Trietanolamin (TEA)

Pemerian berupa cairan kental bening atau berwarna kuning pucat, jernih, tidak berbau atau hampir tidak berbau, bersifat higroskopis. Bahan ini mudah larut dalam air, metanol dan aseton. Titik lebur antara 20-21 °C. Bahan ini berfungsi sebagai pengemulsi dan pengatur pH pada sediaan topikal (Rowe *et al.*, 2009).

h. Akuades

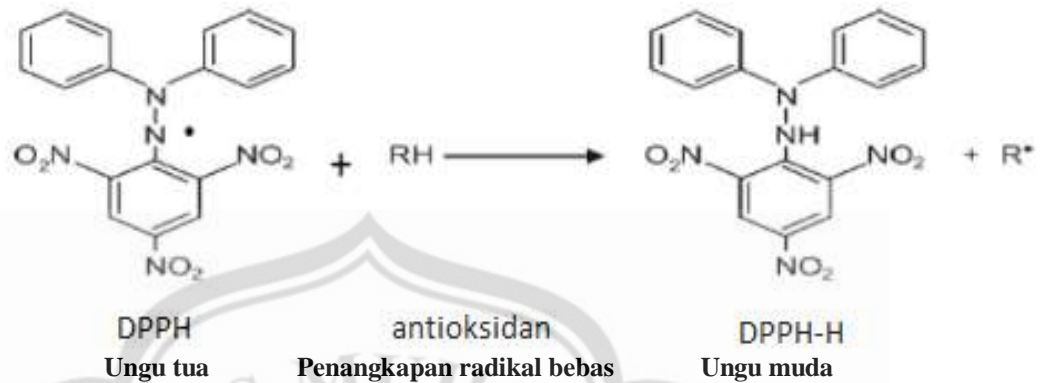
Cairan jernih, tidak berwarna, tidak berbau, dan tidak mempunyai rasa biasanya digunakan sebagai pelarut (Depkes RI, 1979).

**9. Uji aktivitas penangkapan radikal bebas menggunakan metode DPPH**

Pengukuran aktivitas penangkap radikal bebas dapat dilakukan dengan beberapa cara antara lain dengan metode lipid peroksida, tiobarbiturat, malonaldehid, 8-karoten *bleaching*, *1,1-difenil-2-pikrilhidrazil* (DPPH), dan tiosianat. Metode DPPH adalah salah satu yang paling populer karena praktis dan sensitif (Molyneux, 2004). DPPH merupakan senyawa radikal bebas yang stabil dan apabila digunakan sebagai pereaksi cukup dilarutkan. Senyawa ini jika disimpan dalam keadaan dan kondisi penyimpanan yang baik akan tetap stabil selama bertahun-tahun (Winarsi, 2007).

Prinsip dari uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH adalah terjadinya perubahan warna ungu menjadi ungu pudar dan kuning. Perubahan warna tersebut dikarenakan adanya penurunan absorptivitas molar dari molekul DPPH. Perubahan warna tersebut berdasarkan jumlah elektron yang tertangkap. Radikal bebas DPPH yang memiliki elektron tidak berpasangan, memberikan warna ungu. Perubahan warna yang terjadi disebabkan adanya ikatan antara elektron DPPH dengan atom hidrogen yang mengindikasikan adanya peningkatan kemampuan antioksidan dalam menangkap radikal bebas. Jika semua elektron pada radikal bebas DPPH menjadi berpasangan maka warna larutan berubah dari ungu tua menjadi kuning terang dan absorbansi pada panjang gelombang 517 nm akan hilang. Dengan demikian, semakin besar

konsentrasi larutan, maka semakin memudar warna larutan dan absorbansinya semakin kecil (Koleva, 2002).



**Gambar 2.1. Mekanisme penangkapan radikal DPPH oleh antioksidan (Prakash *et al.*, 2001)**

Larutan DPPH berwarna ungu tua bertemu dengan senyawa antioksidan akan memudahkan warna DPPH menjadi ungu muda. Hal ini karena elektron radikal pada DPPH diterminasi dengan suatu senyawa antioksidan. Pengukuran aktivitas antioksidan ditandai dengan penurunan serapan larutan DPPH yang disebabkan adanya penambahan sampel. Untuk memperoleh nilai serapan larutan DPPH terhadap sampel (ekstrak) tersebut dihitung sebagai persen inhibisi (% inhibisi) dengan rumus sebagai berikut: (Zuhra *et al.*, 2008).

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{(A \text{ kontrol} - A \text{ sampel})}{A \text{ kontrol}} \times 100\%$$

Keterangan :

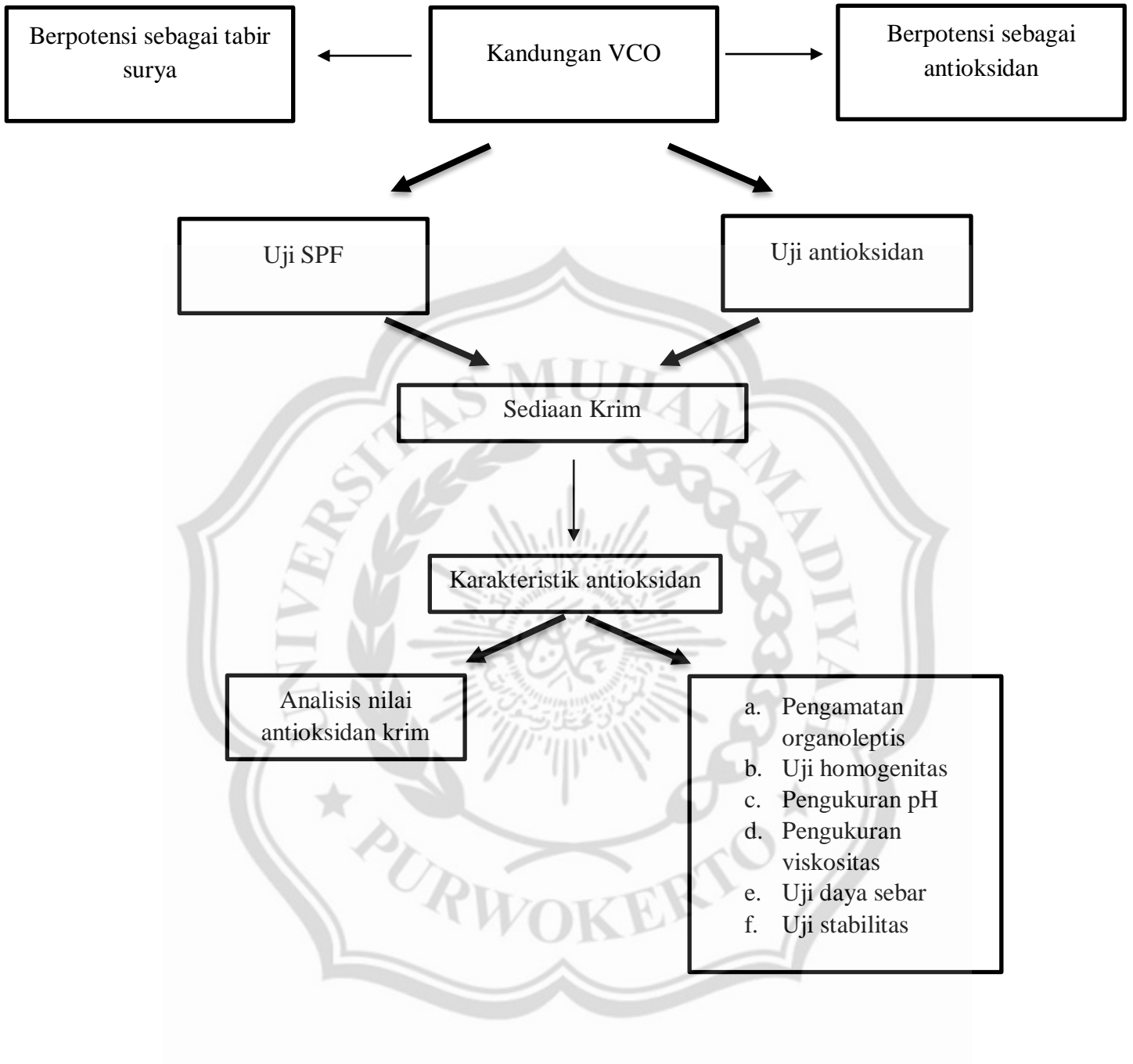
- % inhibisi = persentase hambat antioksidan
- A kontrol = absorbansi DPPH
- A sampel = absorbansi larutan uji

Hasil yang diperoleh dimasukan ke dalam persamaan regresi dengan konsentrasi sampel atau ekstrak (ppm) sebagai basis (sumbu X) dan nilai % inhibisi (antioksidan) sebagai ordinatnya (sumbu Y). Nilai

IC<sub>50</sub> dari perhitungan pada saat % inhibisi sebesar 50% dengan  $Y = Ax + b$   
(Zuhra *et al.*, 2008).



### C. Kerangka Konsep



Gambar 2.2. Kerangka konsep