

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Hasil Penelitian Terdahulu

Penelitian ini mengacu pada penelitian yang telah dilakukan sebelumnya oleh Petrina *et al.*, (2017), yaitu tentang aktivitas antioksidan terhadap DPPH dan toksisitas kulit biji pinang sirih (*Areca catechu* L.). Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa ekstrak metanol kulit biji pinang sirih mempunyai aktivitas antioksidan yang sangat kuat yang ditunjukkan dengan nilai IC_{50} sebesar 30,39 ppm. Selain itu, pada penelitian yang dilakukan oleh Filbert *et al.*, (2014) tentang aktivitas antioksidan ekstrak metanol kulit biji pinang yaki (*Areca vestiaria* Giseke) juga menunjukkan hasil yang sama dengan nilai IC_{50} sebesar 8,3 ppm. Pada penelitian ini juga akan dilakukan penelitian tentang aktivitas antioksidan pada kulit biji pinang (*Areca catechu* L.) serta dibuat sediaan berupa lotion.

B. Landasan Teori

1. Tinjauan Umum Kulit Biji Pinang (*Areca catechu* L.)

a. Klasifikasi



**Gambar 2.1. Pohon Pinang (*Areca catechu* L.) Desa Petuguran,
Kecamatan Punggelan, Kabupaten Banjarnegara**

Kuit biji pinang (*Areca catechu* L.) merupakan tanaman perdu yang termasuk kedalam kelompok tumbuhan monokotil yang secara lengkap diklasifikasikan

Kerajaan : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Sub Divisi : Angiospermae
Kelas : Monocotyledonae
Ordo : Arecales
Family : Arecaceae/Palmae
Genus : *Areca*
Spesies : *Areca catechu* L.

(Syamsuhidayat dan Hutapea, 1991).

b. Deskripsi Tanaman

Areca catechu L. (pinang) merupakan tanaman famili Arecaceae yang dapat mencapai tinggi 15-20 m dengan batang tegak lurus bergaris tengah 15 cm. Buahnya berkecambah setelah 1,5 bulan dan 4 bulan kemudian mempunyai jambul daun-daun kecil yang belum terbuka. Pembentukan batang baru terjadi setelah 2 tahun dan berbuah pada umur 5-8 tahun tergantung keadaan tanah. Tanaman ini berbunga pada awal dan akhir musim hujan dan memiliki masa hidup 25-30 tahun. Biji buah berwarna kecoklatan sampai coklat kemerahan, agak berlekuk-lekuk dengan warna yang lebih muda. Pada bidang irisan biji tampak perisperm berwarna coklat tua dengan lipatan tidak beraturan menembus endosperm yang berwarna agak keputihan ([Depkes RI, 1989](#)).

c. Kandungan Kimia

Buah pinang memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, triterpenoid, steroid, dan tanin yang memiliki efek sebagai antikanker, antitumor, antibakteri, dan juga sebagai antifertilisasi (Simbala, 2007; Runtuwene dan Paendong, 2011). Efek yang ditimbulkan dari pinang ini diduga karena adanya kandungan antioksidan. Antioksidan merupakan zat penangkal radikal bebas yang memiliki peranan penting dalam menghambat proses oksidasi lipida. Antioksidan juga sangat bermanfaat dalam pencegahan timbulnya berbagai penyakit. Peranan antioksidan sangat penting dalam menetralkan dan menghancurkan radikal bebas yang dapat menyebabkan kerusakan sel dan juga merusak biomolekul, seperti DNA, protein, dan lipoprotein di dalam tubuh yang akhirnya dapat memicu terjadinya penyakit degeneratif seperti kanker, jantung, artritis, katarak, diabetes dan hati. Penyakit degeneratif ini disebabkan karena antioksidan yang ada didalam tubuh tidak mampu menetralkan peningkatan konsentrasi radikal bebas. Untuk menghindari hal tersebut, dibutuhkan antioksidan tambahan dari luar atau antioksidan eksogen, seperti vitamin E, vitamin C, maupun berbagai jenis sayuran dan buah-buahan (Soeksmanto *et al.*, 2007; Simbala and Tallei, 2010).

2. Ekstraksi

Menurut Departemen Kesehatan RI (2006), ekstraksi adalah proses penarikan kandungan kimia yang dapat larut dari suatu serbuk simplisia, sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut. Beberapa metode yang banyak digunakan untuk ekstraksi bahan alam antara lain:

a. Maserasi

Maserasi adalah proses ekstraksi simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengadukan pada suhu ruangan. Prosedurnya dilakukan dengan merendam simplisia dalam

pelarut yang sesuai dalam wadah tertutup. Pengadukan dilakukan dapat meningkatkan kecepatan ekstraksi. Kelemahan dari maserasi adalah prosesnya membutuhkan waktu yang cukup lama. Ekstraksi secara menyeluruh juga dapat menghabiskan sejumlah besar volume pelarut yang dapat berpotensi hilangnya metabolit. Beberapa senyawa juga tidak terekstraksi secara efisien jika kurang terlarut pada suhu kamar (27°C). Ekstraksi secara maserasi dilakukan pada suhu kamar (27°C), sehingga tidak menyebabkan degradasi metabolit yang tidak tahan panas (Departemen Kesehatan RI, 2006).

b. Perkolasi

Perkolasi merupakan proses mengekstraksi senyawa terlarut dari jaringan selular simplisia dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna yang umumnya dilakukan pada suhu ruangan. Perkolasi cukup sesuai, baik untuk ekstraksi pendahuluan maupun dalam jumlah besar. (Departemen Kesehatan RI, 2006).

c. Soxhlet

Metode ekstraksi soxhlet adalah metode ekstraksi dengan prinsip pemanasan dan perendaman sampel. Hal itu menyebabkan terjadinya pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel. Dengan demikian, metabolit sekunder yang ada di dalam sitoplasma akan terlarut ke dalam pelarut organik. Larutan itu kemudian menguap ke atas dan melewati pendingin udara yang akan mengembunkan uap tersebut menjadi tetesan yang akan terkumpul kembali. Bila larutan melewati batas lubang pipa samping soxhlet maka akan terjadi sirkulasi. Sirkulasi yang berulang itulah yang menghasilkan ekstrak yang baik (Departemen Kesehatan RI, 2006).

d. Refluks

Ekstraksi dengan cara ini pada dasarnya adalah ekstraksi berkesinambungan. Bahan yang akan diekstraksi direndam dengan cairan penyari dalam labu alas bulat yang dilengkapi dengan alat pendingin tegak, lalu dipanaskan sampai mendidih. Cairan penyari akan menguap, uap tersebut akan diembunkan dengan pendingin tegak dan akan kembali menyari zat aktif dalam simplisia tersebut. Ekstraksi ini biasanya dilakukan 3 kali dan setiap kali diekstraksi selama 4 jam (Departemen Kesehatan RI, 2006).

e. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada suhu yang lebih tinggi dari suhu ruangan, yaitu secara umum dilakukan pada suhu 40-50°C (Departemen Kesehatan RI, 2006).

f. Infusa

Infusa adalah ekstraksi dengan pelarut air pada suhu penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih), suhu terukur (96-98°C) selama waktu tertentu (15-20 menit) (Departemen Kesehatan RI, 2006).

g. Dekokta

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama dan suhu sampai titik didih air, yaitu pada suhu 90-100°C selama 30 menit (Departemen Kesehatan RI, 2006).

3. Uraian Bahan

a. Lanolin (Depkes RI, 1979)

Lanolin biasanya digunakan sebagai basis. Sifat fisik lanolin serupa lemak lengket kuning muda, tembus cahaya, memiliki bau yang khas dan lemah. Lanolin mudah larut dalam kloroform P dan eter P, agak sukar larut dalam etanol (95%) serta sukar larut dalam air. Suhu lebur lanolin antara 36°C sampai 42°C.

b. Malam putih (Depkes RI, 2014)

Pemerian padatan putih kekuningan, sedikit tembus cahaya dalam keadaan lapisan tipis; bau khas lemah dan bebas bau tengik. Bobot jenis lebih kurang 0,95. Khasiat dari malam putih zat tambahan atau basis.

c. Asam stearat (Rowe *et al.*, 2009)

Asam stearat merupakan asam lemak jenuh yang digunakan untuk formulasi oral dan topikal dalam sediaan farmasi. Asam stearat digunakan sebagai bahan pengemulsi pada sediaan topikal. Kelarutan mudah larut dalam benzena, kloroform, eter, dan etanol 95% serta tidak larut dalam air.

d. Propilparaben (Rowe *et al.*, 2009)

Pemerian berbentuk bubuk putih, kristal, tidak berbau, dan tidak berasa. Propilparaben secara luas digunakan sebagai pengawet antimikroba di kosmetik, produk makanan, dan formulasi farmasi. Propilparaben dapat digunakan sendiri, dalam kombinasi dengan ester paraben lainnya, atau dengan agen antimikroba lainnya. Ini dapat menyebabkan pH formulasi menjadi lebih basa.

e. Metilparaben (Depkes RI, 1995)

Pemerian berbentuk serbuk putih, tidak berbau atau berbau khas lemah, memberikan sedikit rasa terbakar. Kelarutan mudah larut dalam etanol, eter, propilenglikol, dan air panas tetapi sedikit larut dalam benzena dan karbontetraklorida.

f. Disodium EDTA (Rowe *et al.*, 2009)

Pemerian serbuk putih, bahkan ini berfungsi untuk mencegah bau tengik yang disebabkan oleh logam dengan pembentukan khelat logam yang tidak larut. Bahan ini juga bisa digunakan sebagai penstabil. Komposisi bahan ini untuk pemakaian topikal sebesar 0,01-0,1% b/v.

g. Propilenglikol (Rowe *et al.*, 2009)

Pemerian berupa cairan higroskopis, jernih, tidak berwarna dan tidak berbau atau hampir tidak berbau dan rasa agak manis. Sifat kelarutannya yaitu mudah larut dengan air, aseton, alkohol dan kloroform. Larut dalam 6 bagian eter, tidak larut dengan eter minyak tanah P dan dengan minyak lemak. Bahan ini berfungsi sebagai pengawet, antimikroba, cosolven, densifektan.

h. Vitamin C (Rowe *et al.*, 2009)

Pemerian berupa serbuk berwarna putih atau agak kuning, tidak berbau, kristal atau kristal tanpa warna, rasa asam. Vitamin C secara bertahap berwarna gelap saat terpapar cahaya

i. Trietanolamin (Rowe *et al.*, 2009)

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.

j. Aqua destillata (Depkes RI, 1993)

Air berupa cairan jernih, tidak berwarna, tidak berasa. Air merupakan komponen yang paling besar persentasenya dalam pembuatan lotion. Air yang digunakan dalam pembuatan lotion merupakan air murni yaitu air yang diperoleh dengan cara penyulingan, proses penukaran ion dan osmosis sehingga tidak

lagi mengandung ion-ion dan mineral-mineral. Air memiliki pH sekitar 5,0-7,0, dan berfungsi sebagai pelarut.

k. *Oleum Rosae* (Depkes RI, 1979)

Pemerian berupa cairan tidak berwarna atau berwarna kuning, bau menyerupai bunga mawar, rasanya khas, mudah melebur jika dipanaskan. Kelarutannya larut dalam 1 bagian kloroform. Bahan ini berfungsi sebagai pewangi. Minyak mawar

merupakan minyak atsiri yang diperoleh dengan penyulingan uap bunga mawar segar.

4. Lotion

Sediaan yang digunakan pada tubuh bagian luar untuk mempercantik diri, melindungi kulit, maupun untuk membersihkan badan sering disebut sebagai kosmetik. Salah satu contoh kosmetik yaitu lotion. Lotion merupakan sediaan cair dalam bentuk emulsi atau suspensi dengan atau tanpa bahan obat yang digunakan pada kulit bagian luar yang merupakan salah satu sediaan kosmetik yang penggunaannya dioleskan pada kulit sebagai pelindung atau pelembab atau untuk obat berdasarkan bahannya. Sediaan ini dimaksudkan setelah digunakan akan segera kering dan hanya meninggalkan lapisan tipis (Ansel, 2005).

Lotion merupakan sediaan kosmetik yang mengandung air lebih banyak. Sediaan ini memiliki sifat sebagai sumber pelembab bagi kulit, memberi lapisan minyak yang sama seperti sebum, menjadikan tangan dan badan terasa lembut, tetapi tidak berminyak dan mudah dioleskan (Sularto *et al.*, 1995).

Lotion termasuk dalam golongan pelembab kulit yang terdiri dari minyak nabati, hewani, maupun sintesis. Lotion berfungsi untuk melembutkan dan melenturkan kulit yang kasar dan kering. Lotion

didefinisikan sebagai campuran antara dua fase yang tidak saling campur dan distabilkan oleh emulgator, berbentuk cairan yang dapat dituang bila ditempatkan pada suhu ruang (Lachman *et al.*, 1994).

Lotion dimaksudkan untuk penggunaan pada kulit sebagai pelindung untuk obat karena sifat dari bahan-bahannya. Kecairan dari sediaan ini memungkinkan pemakaian yang merata dan cepat menyerap pada permukaan kulit yang luas. Sediaan ini segera kering pada kulit setelah pemakaian dan meninggalkan lapisan tipis dari komponen obat pada permukaan kulit. Fase terdispersi pada lotion cenderung memisah dari pembawanya bila didiamkan. Pada saat lotion akan digunakan harus dikocok kuat-kuat terlebih dahulu supaya bahan-bahan yang terpisah akan terdispersi kembali (Ansel, 1989).

Sediaan lotion tersusun atas komponen zat berlemak, air, zat pengemulsi dan humektan. Komponen zat berlemak diperoleh dari lemak maupun minyak dari tanaman, hewan maupun minyak mineral seperti minyak zaitun, minyak jojoba, minyak parafin, lilin lebah dan sebagainya. Zat pengemulsi umumnya berupa surfaktan anionik, kationik maupun nonionik. Humektan bahan pengikat air dari udara, antara lain gliserin, sorbitol, propilen glikol dan polialkohol (Jellineck, 1970). Komponen-komponen yang menyusun lotion adalah pelembab, pengemulsi, bahan pengisi, pembersih, bahan aktif, pelarut, pewangi, dan pengawet (Setyaningsih *et al.*, 2007).

Pada metode pembuatan lotion, fase minyak dan fase air yang terpisah disatukan dengan pemanasan dan pengadukan. Fase minyak mengandung komponen bahan yang larut minyak. Fase air mengandung komponen bahan yang larut air yang dipanaskan pada suhu yang sama dengan fase minyak kemudian disatukan (Rieger, 2000). Pencampuran antara fase minyak dan air dilakukan pada suhu 70-75°C. Proses emulsifikasi pada pembuatan lotion adalah pada suhu 70°C (Mitsui, 1997).

Emulsi merupakan penyatuan dari zat-zat yang mempunyai sifat yang bertolak belakang. Zat-zat tersebut mempunyai sifat kelarutan yang berbeda, yaitu sebagian larut dalam air dan sebagian larut dalam minyak. Penyatuan ini dimungkinkan dengan menambahkan suatu zat yang memiliki gugus polar maupun non polar secara bersamaan dalam satu molekulnya. Zat tersebut dinamakan emulsifier (Suryani *et al.*, 2000). Pada pembuatan emulsi akan terjadi kontak antara dua cairan yang tidak bercampur karena berbeda kelarutannya dan pada saat tersebut terdapat kekuatan yang menyebabkan masing-masing cairan menahan pecahnya menjadi partikel-partikel yang lebih kecil. Kekuatan ini disebut tegangan antar muka. Zat-zat yang dapat meningkatkan penurunan tegangan tersebut akan merangsang suatu cairan untuk menjadi partikel-partikel yang lebih kecil. Penggunaan zat-zat ini sebagai zat pengemulsi dan zat penstabil menghasilkan penurunan tegangan antarmuka dari kedua cairan yang tidak saling bercampur, mengurangi gaya tolak antara cairan-cairan tersebut dan mengurangi gaya tarik menarik antarmolekul dari masing-masing cairan (Ansel, 1989).

Evaluasi sediaan lotion meliputi uji organoleptis, uji pH (pH lotion berdasarkan SNI 16-4399-1996 yaitu 4,6-8 dan pH skin lotion komersial yaitu berkisar 7,25-8,45), uji daya lekat, uji homogenitas, uji stabilitas dalam penyimpanan, uji daya sebar (Daya sebar sediaan topikal yang baik berkisar 5-7 cm). Semakin luas daya sebar suatu lotion maka dengan cepat melepaskan efek terapi di kulit) dan uji viskositas (Viskositas lotion berdasarkan SNI 16-4399-1996 yaitu berada dalam kisaran nilai viskositas 2000-50000 cp dan kisaran nilai viskositas skin lotion komersial yaitu 1700-7200 cp).

5. Antioksidan

Antioksidan alami merupakan senyawa fitokimia berupa zat alami yang terdapat dalam tanaman yang dapat memberikan cita rasa, aroma

dan warna yang khas pada tanaman tersebut. Secara kimia, senyawa antioksidan merupakan senyawa pendonor elektron. Secara biologis, antioksidan merupakan senyawa yang dapat menangkal atau meredam proses radikal bebas. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga senyawa yang bersifat oksidan tersebut dapat dihambat (Yenrina dan Sayuti, 2015).

Senyawa fenolik mempunyai berbagai efek biologis seperti aktivitas antioksidan melalui mekanisme sebagai pereduksi, penangkal radikal bebas, pengkkelat logam, peredam terbentuknya singlet oksigen serta pendonor elektron. Flavonoid merupakan salah satu dari kelompok senyawa fenolik yang biasanya ditemukan dalam buah-buahan maupun sayur-sayuran. Beberapa tahun belakangan ini, telah dibuktikan bahwa flavonoid memiliki potensi yang besar dalam melawan penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas (Yenrina dan Sayuti, 2015).

Manfaat antioksidan sangatlah penting yaitu untuk mempertahankan mutu produk pangan, kesehatan serta kecantikan. Dalam bidang kesehatan dan kecantikan, antioksidan berfungsi untuk mencegah penyakit kanker dan tumor, penyempitan pembuluh darah, penuaan dini, dan penyakit degeneratif lainnya. Di bidang industri pangan, antioksidan dapat digunakan untuk mencegah proses terjadinya oksidasi yang dapat menyebabkan kerusakan, seperti ketengikan, perubahan warna dan aroma serta kekeruhan fisik pada produk pangan lainnya (Tamat *et al.*, 2007).

Resiko terkena penyakit degeneratif seperti kardiovaskular, kanker, aterosklerosis, osteoporosis dan lain-lain, bisa dicegah dengan mengonsumsi senyawa antioksidan secukupnya. Konsumsi makanan yang mengandung antioksidan yang dapat meningkatkan status imunologi dan mencegah timbulnya penyakit degeneratif akibat penuaan dini (Yenrina dan Sayuti, 2015).

6. Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan atom atau molekul elektron yang tidak berpasangan sehingga mengakibatkan sifatnya sangat tidak stabil (Robert, 2008). Hal ini karena radikal bebas mempunyai satu elektron atau lebih yang tidak berpasangan pada kulit luar. Elektron pada radikal bebas sangat reaktif dan mampu bereaksi dengan protein, lipid, karbohidrat, atau asam deoksiribonukleat (DNA) sehingga terjadi perubahan struktur dan fungsi sel. Jika radikal bebas sudah terbentuk dalam tubuh, maka akan terjadi reaksi berantai dan menghasilkan radikal bebas baru. Reaksi ini dapat berakhir jika ada molekul yang memberikan elektron yang dibutuhkan oleh radikal bebas tersebut atau dua buah gugus radikal bebas membentuk ikatan non-radikal (Kartika, 2010). Senyawa radikal bebas di dalam tubuh dapat merusak asam lemak tak jenuh ganda pada membran sel. Akibatnya, dinding sel menjadi rapuh. Senyawa oksigen reaktif ini juga mampu merusak bagian dalam pembuluh darah sehingga meningkatkan pengendapan kolesterol dan menimbulkan arterosklerosis, merusak basa DNA sehingga mengacaukan sistem info genetika, dan berlanjut pada pembentukan sel kanker (Winarsi, 2007).

Tahapan reaksi pembentukan radikal bebas secara umum mirip dengan rancidity oxidative. Yaitu melalui 3 tahapan reaksi yaitu inisiasi, propagasi dan terminasi, dengan mekanisme kerja sebagai berikut (Gordon, 1990; Cuppett, 1997).

a. Tahap inisiasi, merupakan awal pembentukan radikal bebas. Pada tahap ini radikal bebas mulai terbentuk yang diproduksi oleh beberapa proses. Suhu tinggi, proses ekstrusi dan tekanan pada proses pemotongan bahan polimer dapat menghasilkan radikal alkil. Setelah oksidasi dimulai, menyebabkan konsentrasi hidroperoksida menjadi besar. Dekomposisi hidroperoksida menjadi sumber utama inisiator radikal. Penyerapan sinar UV menghasilkan radikal yang disebabkan

oleh hidroperoksida dan senyawa karbonil. Kebanyakan degradasi polimer disebabkan oleh penyerapan cahaya ultra violet dari autoksidasi radikal. Substrat oksidatif dapat bereaksi secara langsung dengan oksigen khususnya pada temperatur tinggi sehingga menghasilkan radikal.

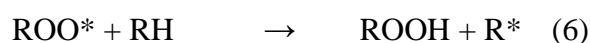


Pada tahap inisiasi asam lemak (RH) bereaksi dengan oksigen triplet, dan membentuk radikal lemak (R^*) dan radikal peroksida (HOO^*) dengan inisiator cahaya atau panas.

b. Tahap Propagasi, merupakan awal pemanjangan rantai radikal atau reaksi, dimana radikal-radikal bebas akan diubah menjadi radikal-radikal yang lain.

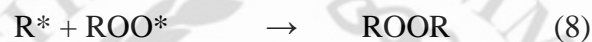
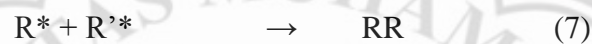
Pada tahap propagasi terjadi oksigenasi radikal lemak (R^*) membentuk radikal peroksida (ROO^*). Proses oksigenasi ini terjadi sangat cepat dengan aktifitas energi yang hampir mendekati nol, sehingga konsentrasi ROO^* yang terbentuk jauh lebih besar. Konsentrasi R^* dalam sistem makanan, dimana oksidasi berada kemudian radikal peroksida yang terbentuk, akan bereaksi dengan asam lemak lain dan membentuk hidroperoksida dan radikal lemak baru (R'^*).

Reaksi propagasi dapat terjadi beberapa kali sebelum terjadi pemutusan oleh radikal peroksi ke non radikal. Dekomposisi homolitik hidroperoksida dihasilkan oleh reaksi propagasi sehingga meningkatkan tingkat inisiasi oleh produksi radikal. Laju reaksi dari molekul oksigen dengan radikal alkil membentuk peroksi radikal (reaksi 5) jauh lebih tinggi jika dibandingkan laju reaksi radikal peroksi dengan atom hidrogen dari substrat (reaksi 6)



c. Tahap terminasi, yaitu senyawa radikal yang bereaksi dengan radikal lain atau dengan penangkap radikal, sehingga potensi propagasinya rendah.

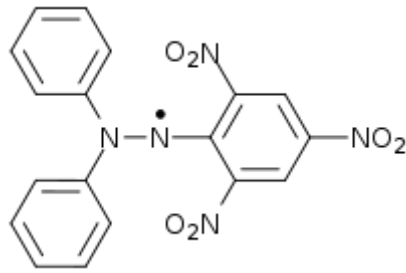
Konversi radikal peroksi dan alkil ke non radikal mengakhiri reaksi propagasi, sehingga mengurangi perpanjangan rantai kinetik. Reaksi terminasi (reaksi 7 dan 8) yang signifikan terjadi ketika konsentrasi oksigen sangat rendah. Kombinasi radikal alkil (reaksi 7) menyebabkan cross-linking, yang mengakibatkan peningkatan viskositas dan berat molekul.



Pada tahap terminasi, akan terbentuk spesies non radikal karena radikal bebas yang bereaksi satu sama lain. Sedangkan hidroperoksida akan terdekomposisi menjadi produk alkohol, asam keton, dan substrat lain yang lebih stabil.

Radikal bebas sering disamakan dengan oksidan karena memiliki sifat yang mirip dan dapat menyebabkan kerusakan yang sama walaupun prosesnya berbeda (Halliwell, 1999). Efek radikal bebas dalam tubuh akan dinetralisir oleh antioksidan yang dibentuk oleh tubuh sendiri dan suplemen luar melalui makanan, minuman atau obat-obatan, seperti karotenoid, vitamin C, E dan lain-lain (Qomatiyatus *et al.*, 2008).

7. Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)



Gambar 1.2. Struktur DPPH (Kurniawan, 2011).

Reagen DPPH pertama kali ditemukan oleh Goldschmidt dan Renn pada tahun 1942. DPPH merupakan senyawa radikal bebas berwarna ungu, dan pada awalnya digunakan sebagai reagen kolorimetri. Selain itu, reagen DPPH juga berfungsi untuk investigasi reaksi inhibisi polimerasi, uji antioksidan (amina, fenol, dan vitamin), serta inhibisi reaksi homolitik (Kurniawan, 2011).

DPPH merupakan radikal bebas yang stabil pada suhu kamar dan sering digunakan untuk menilai aktivitas antioksidan beberapa senyawa atau ekstrak bahan alam. Interaksi antioksidan dengan DPPH baik secara transfer elektron atau radikal hidrogen pada DPPH akan menetralkan karakter radikal bebas dari DPPH. Prinsip uji DPPH adalah penghilangan warna untuk mengukur kapasitas antioksidan yang langsung menjangkau radikal DPPH dengan pemantauan absorbansi pada panjang gelombang 517 nm menggunakan spektrofotometer. Radikal DPPH dengan nitrogen organik terpusat adalah radikal bebas stabil dengan warna ungu gelap yang ketika direduksi menjadi bentuk non radikal oleh antioksidan menjadi warna kuning (Yu, 2008).

Metode DPPH merupakan metode yang cepat, sederhana, dan tidak membutuhkan biaya tinggi dalam menentukan kemampuan antioksidan dengan menggunakan radikal bebas 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Metode ini sering digunakan untuk menguji senyawa yang berperan sebagai free radical scavengers atau donor hidrogen dan mengevaluasi aktivitas antioksidannya, serta mengkuantifikasi jumlah kompleks radikal-antioksidan yang terbentuk.

Metode DPPH dapat digunakan untuk sampel yang berupa padatan atau cairan (Prakash *et al.*, 2001). Setiap molekul yang dapat menyumbangkan elektron atau hidrogen akan bereaksi dan memudahkan DPPH. Intensitas warna DPPH akan berubah dari ungu menjadi kuning oleh elektron yang berasal dari senyawa penangkap radikal bebas (Nihlati *et al.*, 2011).

Nilai inhibition concentration (IC_{50}) adalah konsentrasi antioksidan (mg/mL) yang mampu menghambat 50% aktivitas radikalbebas. Pola aktivitas antioksidan dari bahan yang diujikan dinyatakan aktif bila menghambat radikal bebas lebih dari 80%, dinyatakan sedang keaktifannya apabila dapat menghambat 50% sampai 80% dan dinyatakan tidak aktif apabila hanya dapat menghambat kurang dari 50% (Molyneux, P. 2004).

Molyneux (2004) menyatakan bahwa suatu zat mempunyai sifat antioksidan bila nilai IC_{50} kurang dari 200 ppm. Bila nilai IC_{50} yang diperoleh berkisar antara 200-1000 ppm, maka zat tersebut kurang aktif namun masih berpotensi sebagai zat antioksidan.

8. Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis adalah metode analisa yang penggunaannya cukup luas, baik untuk analisa kualitatif maupun kuantitatif. Sinar ultraviolet mempunyai panjang gelombang antara 200-400 nm, sementara sinar tampak mempunyai panjang gelombang 400-750 nm. Penyerapan (absorpsi) sinar UV dan sinar tampak pada umumnya dihasilkan oleh eksitasi elektron-elektron ikatan, akibatnya panjang gelombang pita yang mengabsorpsi dapat dihubungkan dengan ikatan yang mungkin ada dalam suatu molekul (Gandjar dan Rohman, 2007).

Hukum Lambert-Beer merupakan hubungan linearitas antara serapan dengan konsentrasi larutan analit (Dachriyanus, 2004). Dalam

hukum Lambert-Beer berlaku syarat sebagai berikut (Gandjar& Rohman, 2007)

- a. Sinar yang digunakan dianggap monokromatis.
- b. Penyerapan terjadi dalam suatu volume yang mempunyai penampang luas yang sama.
- c. Senyawa yang menyerap dalam larutan tersebut tidak tergantung terhadap yang lain dalam larutan tersebut.
- d. Tidak terjadi peristiwa fluoresensi atau fosforisensi.
- e. Indeks bias tidak tergantung pada konsentrasi larutan.

Panjang gelombang yang digunakan dalam analisis kuantitatif adalah panjang gelombang yang mempunyai absorbansi maksimal. Untuk pemilihan panjang gelombang maksimal, dilakukan dengan membuat kurva hubungan antara absorbansi dengan panjang gelombang dari suatu larutan baku pada konsentrasi tertentu, kurva tersebut disebut sebagai kurva baku (Gandjar& Rohman, 2007).

Spektrofotometri serapan adalah pengukuran serapan radiasi elektromagnetik panjang gelombang tertentu yang sempit, mendekati monokromatik yang diserap zat. Pengukuran serapan dapat dilakukan pada daerah ultraviolet (panjang gelombang 190-380 nm) atau pada daerah sinar tampak (panjang gelombang 380-780 nm). Meskipun spektrum pada daerah ultraviolet dan daerah cahaya tampak dari suatu zat yang tidak khas, tetapi sangat cocok untuk penetapan kuantitatif, dan untuk beberapa zat berguna untuk membantu identifikasi (Depkes RI, 1979).

Instrumen yang digunakan menurut Gandjar dan Rohman (2007) untuk mempelajari serapan atau emisi radiasi elektromagnetik sebagai fungsi dari panjang gelombang disebut “spektrometer” atau spektrofotometer. Komponen-komponen pokok dari spektrofotometer meliputi:

- a. Sumber-sumber lampu

Lampu deuterium digunakan untuk daerah UV (pada panjang gelombang dari 190-350 nm), sementara lampu halogen kuarsa atau lampu tungsten digunakan untuk daerah visibel (pada panjang gelombang antara 350-900 nm).

b. Monokromator

Digunakan untuk mendispersikan sinar ke dalam komponen-komponen panjang gelombangnya yang selanjutnya akan dipilih oleh celah (slit). Monokromator berputar sedemikian rupa sehingga kisaran panjang gelombang dilewatkan pada sedemikian rupa sehingga kisaran panjang gelombang dilewatkan pada sampel sebagai scan instrumen melewati spektrum.

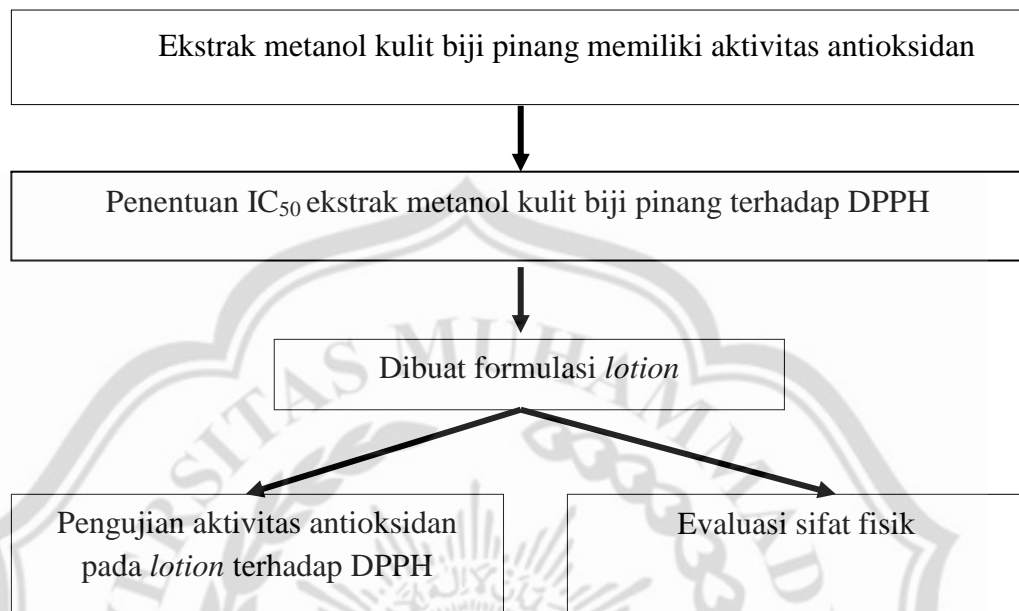
c. Optik-optik

Dapat didesain untuk memecah sumber sinar sehingga sumber sinar melewati 2 kompartemen, dan sebagaimana dalam spektrofotometer berkas ganda (*double beam*), suatu larutan blanko dapat digunakan dalam satu kompartemen untuk mengoreksi pembacaan atau spektrum sampel. Yang paling sering digunakan sebagai blanko dalam spektrofotometri adalah semua pelarut yang digunakan untuk melarutkan sampel atau pereaksi.

d. Sel absorpsi (kuvet), pada pengukuran di daerah tampak kuvet kaca atau kuvet kaca corex dapat digunakan, tetapi untuk pengukuran pada daerah UV kita harus menggunakan sel kuarsa karena gelas tidak tembus cahaya pada daerah ini. Umumnya tebal kuvetnya adalah 10 mm, tetapi yang lebih kecil ataupun yang lebih besar dapat digunakan. Sel yang biasa digunakan berbentuk persegi, tetapi bentuk silinder juga dapat digunakan. Kita harus menggunakan kuvet yang tertutup untuk pelarut organik. Sel yang baik adalah kuarsa dan gelas hasil leburan serta seragam keseluruhannya (Underwood, 2002).

e. Detektor, peranan detektor penerima adalah memberikan respon terhadap cahaya pada berbagai panjang gelombang (Underwood, 2002).

C. Kerangka Konsep



Gambar 2.3. Kerangka Konsep

D. Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah :

1. Kulit biji pinang dapat diformulasikan menjadi sediaan lotion yang memiliki sifat fisik yang baik.
2. Sediaan lotion ekstrak metanol kulit biji pinang memiliki aktivitas penangkapan radikal bebas terhadap DPPH