

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. Penelitian ini menggunakan kulit biji buah pinang sirih yang didasari oleh pendekatan kemotaksonomi dengan pinang yaki untuk diuji aktivitas antioksidannya.

B. Tinjauan Pustaka

1. Pinang (*Areca catechu* L.)



Gambar 2.1. Tanaman pinang (*Areca catechu* L.)

a. Klasifikasi

Secara umum, tanaman pinang diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom : Plantae

Divisi : Spermatophyta

Sub divisi : Angiospermae
Kelas : Monocotyledonae
Ordo : Arecales
Family : Arecaceae/ Palmae
Genus : Areca
Spesies : *Areca catechu* L.
(Syamsuhidayat dan Hutapea, 1991).

b. Morfologi

Pinang (*Areca catechu* L.) merupakan tanaman famili *Arecaceae* yang tingginya dapat mencapai 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 (Depkes RI, 1989).

Bagian-bagian dari tanaman pinang antara lain berakar serabut, putih kotor, batang tegak lurus dengan tinggi 10-30 meter, bergaris tengah 15 cm, tidak bercabang dengan bekas daun yang lepas. Daun majemuk menyirip tumbuh berkumpul di ujung batang membentuk roset batang. Bunganya memiliki tongkol bunga dengan seludang panjang yang mudah rontok, keluar dari bawah roset daun, panjang sekitar 75 cm, dengan tangkai pendek bercabang rangkap. Biji satu, bentuknya seperti kerucut pendek dengan ujung membulat, pangkal agak datar dengan suatu lekukan dangkal, panjang 15-30 mm, permukaan luar berwarna kecoklatan sampe coklat kemerahan, agak berlekuk-lekuk menyerupai jala dengan warna yang lebih muda. Pada bidang irisan biji tampak perisperm berwarna coklat tua dengan lipatan tidak beraturan. Pinang memiliki nama daerah seperti pineng, pineung (Aceh), pinang (Gayo), batang mayang (Karo), pining (Toba), batang pinang (Minangkabau), dan jambe (Sunda, Jawa) (Depkes RI, 1989).

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

Areca catechu L. memiliki efek antioksidan dan antimitagenik, astringent, dan juga obat cacing. Biji buah pinang mengandung alkaloid, seperti arekolin ($C_8H_{13}NO_2$), arekolidine, arekain, guvakolin, guvasine dan isoguvasine. Ekstrak etanolik biji buah pinang mengandung tanin terkondensasi, tanin terhidrolisis, flavan, dan senyawa fenolik, asam galat, getah, lignin, minyak menguap dan tidak menguap, serta garam (Wang and Lee, 1996). Sedangkan kulit bijinya mengandung senyawa fenolik, flavonoid, alkaloid dan triterpenoid yang berperan sebagai antioksidan (Petrina *et al.*, 2017).

2. Ekstraksi

Simplisia adalah bahan alam yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga, kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dibagi menjadi 3, yaitu simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia mineral (Depkes RI, 1979). Ekstraksi adalah suatu proses menarik kandungan kimia dalam suatu bahan yang dapat larut dengan pelarut yang sesuai. Dengan mengetahui senyawa aktif yang terkandung dalam simplisia maka akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat (Ditjen POM, 2000). Faktor yang mempengaruhi kecepatan penyarian adalah kecepatan difusi zat yang larut melalui lapisan-lapisan batas antara cairan penyari dengan bahan yang mengandung zat tersebut. Kecepatan melintasi lapisan batas dipengaruhi oleh faktor yang mempengaruhi pemindahan massa yaitu: perbedaan konsentrasi, tebal lapisan batas, serta koefisien difusi.

Macam-macam metode ekstraksi, antara lain :

a. Maserasi

Maserasi adalah penyarian dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Maserasi ini digunakan untuk menyari zat aktif yang mudah larut dalam cairan penyari dan tidak mengembang dalam cairan penyari. Contoh cairan penyari yang dapat digunakan yaitu air, etanol, campuran air-etanol (Depkes RI, 2000).

b. Infundasi

Infundasi adalah proses penyarian yang digunakan untuk menyari zat aktif yang larut dalam air dari bahan-bahan nabati. Infundasi dilakukan dengan cara menambahkan serbuk dengan air secukupnya dalam penangas air selama 15 menit yang dihitung dari mulai suhu dalam panci mencapai 90°C sambil sesekali diaduk, kemudian disaring dengan menggunakan kain flannel ketika infus masih panas. Sari yang dihasilkan dari penyarian cara ini tidak stabil dan mudah tercemar oleh bakteri dan jamur (Depkes RI, 1986).

c. Perkolasi

Istilah perkolasi berasal dari bahasa latin *per* yang artinya melalui dan *colare* yang artinya merembes, dan secara umum dapat dinyatakan sebagai proses dimana obat yang sudah halus diekstraksi dalam pelarut yang cocok dengan cara melewati penyari secara perlahan melalui obat dalam suatu kolom. Alat untuk perkolasi disebut perkolator, dan ekstrak yang terkumpul disebut perkolat (Ansel, 1989).

d. Sokhletasi

Sokhletasi adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang dilakukan dengan menggunakan alat khusus sehingga ekstraksi terjadi secara kontinyu dengan jumlah pelarut yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Depkes RI, 1986).

Ekstrak adalah 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). Berdasarkan sifatnya, ekstrak dibedakan menjadi 4 (Voigt, 1995), yaitu :

a. Ekstrak encer (*extractum tenue*)

Sediaan ini memiliki konsistensi semacam madu dan dapat dituang. Pada saat ini ekstrak encer sudah tidak terpakai lagi.

b. Ekstrak kental (*extractum spissum*)

Sediaan ini liat (kuat) dalam keadaan dingin dan tidak dapat dituang. Kandungan airnya berjumlah sampai 30%.

c. Ekstrak kering (*extractum siccum*)

Sediaan ini memiliki konsistensi kering dan mudah digosokkan. Melalui penguapan cairan pengekstraksi dan pengeringan sisanya akan terbentuk suatu produk, yang sebaiknya memiliki kandungan lembab tidak lebih dari 5%.

d. Ekstrak cair (*extractum fluidum*)

3. Krim (*Cream*)

Krim adalah sediaan setengah padat berupa emulsi kental mengandung tidak kurang dari 60% air, dimaksudkan untuk pemakaian luar. Tipe krim ada 2 yaitu: krim tipe air dalam minyak (A/M) dan krim minyak dalam air (M/A). Untuk membuat krim digunakan zat pengemulsi, umumnya berupa surfaktan-surfaktan anionik, kationik dan nonionik (Anief, 2008).

Menurut Depkes RI (1993), produk krim adalah sediaan setengah padat mengandung satu atau lebih zat terlarut atau terdispersi dalam bahan dasar yang sesuai. Menurut Schmitt dan Williams (1996), umumnya produk krim terbentuk dari minyak yang dimasukkan ke dalam air pada fase minyak dan humektan yang lebih banyak dari produk lotion. Krim terdiri dari 15-40% fasa minyak dan 5-15% fasa humektan, dengan karakteristik penampakkannya hampir sama dengan produk *lotion*.

Krim terdiri dari emulsi minyak dalam air sehingga dapat dicuci dengan air serta lebih ditujukan untuk pemakaian kosmetik dan estetika.

Krim digolongkan menjadi dua tipe, yakni:

1. Tipe A/M, yakni air terdispersi dalam minyak. Contohnya *cold cream*. *Cold cream* adalah sediaan kosmetika yang digunakan untuk memberi rasa dingin dan nyaman pada kulit.
2. Tipe M/A, yakni minyak terdispersi dalam air. Contohnya, *vanishing cream*. *Vanishing cream* adalah sediaan kosmetik yang digunakan untuk membersihkan, melembabkan dan sebagai alas bedak (Widodo, 2013).

4. Lulur

Lulur adalah kosmetika yang digunakan untuk merawat dan membersihkan kulit dari kotoran dan sel kulit mati, sedangkan luluran adalah aktivitas menghilangkan kotoran, minyak, atau kulit mati yang dilakukan dengan pijatan diseluruh badan. Hasilnya dapat langsung terlihat, yaitu kulit menjadi lebih halus, kencang, harum serta sehat bercahaya (Fauzi dan Nurmalina, 2012). Amirudin (2003) menjelaskan lulur adalah bentuk sediaan cair maupun setengah padat yang berupa emulsi untuk mengangkat kotoran sel kulit mati yang tidak terangkat sempurna oleh sabun dan memberikan kelembaban serta mengembalikan kelembutan kulit, seperti kelenjar rambut dan keringat, untuk mendapatkan efek maksimal lulur digunakan selama 30 menit pada kulit tubuh agar dapat meresap dengan baik kedalam kulit. Lulur adalah sediaan kosmetik tradisional yang diresepkan dari turun temurun (Tranggono, 2007).

Lulur badan (*body scrub*) terbagi beberapa bentuk sediaan yaitu lulur bubuk, lulur krim, ataupun lulur kocok atau cair. Lulur badan (*body scrub*) merupakan perawatan tubuh oleh dalam keadaan tubuh basah dengan menggunakan berbagai ramuan, seperti herbal lulur badan. Tujuan penggunaan dari lulur badan (*body scrub*) adalah untuk mengangkat sel kulit mati, kotoran, dan membuka pori-pori sehingga pertukaran udara bebas dan kulit menjadi lebih cerah dan putih. Kosmetik pembersih seperti sabun, krim pembersih, susu pembersih, bahkan krim pembersih untuk kulit yang sangat kotor pun tidaksanggup untuk mengangkat sel-sel yang sudah mati dipermukaan kulit itu. Sel-sel kulit mati itu tidak dapat terlepas

dari epidermis karena kosmetik pembersih terlalu halus atau licin. Karena itu diperlukan bahan yang agak kasar untuk dapat melepaskannya dari kulit, seperti batu apung, handuk kasar atau kosmetik pengampelas atau penipis kulit yang umum disebut lulur krim.

Sediaan krim yang baik harus memiliki stabilitas fisik yang baik, karena tidak dapat kembali ke dua tahap terpisah. Ada dua jenis dasar emulsi. Pertama minyak dalam air (M/A) dan kedua air dalam minyak (A/M). Pemilihan dasar tipe emulsi adalah sesuai dengan tujuan dan jenis agen. Adapun keterbatasan hal mengacu pada produk yang terdiri dari emulsi minyak dalam air (M/A) dan untuk kosmetik dengan estetika, dan tidak lengket, mudah tersebar di permukaan tubuh, sensasi dingin dan mudah dicuci (Nursiah *et al.*, 2009).

Sesuai fungsi utama lulur yang mengangkat sel-sel kulit mati, lulur yang baik mempunyai butiran sehingga ketika dipegang dan dioleskan terasa kasar sehingga semua kotoran yang menempel pada kulit dapat terangkat. Lulur mempunyai aroma yang tidak terlalu wangi dan warna tidak mencolok, sebab jika terlalu wangi dan terlalu mencolok dikhawatirkan pewangi dan pewarna itu berasal dari pewangi dan pewarna buatan, seperti pewarna tekstil. Untuk aroma dan warna lulur dipengaruhi oleh bahan-bahan yang digunakan saat pembuatan lulur (Fauzi dan Nurmalina, 2012).

Bahan-bahan dasar lulur krim sama dengan krim pembersih kulit pada umumnya yang mengandung lemak dan penyegar, lulur krim dimasuki buiran-butiran kasar yang bersifat pengampelas (*abrasiver*) agar bisa mengangkat sel-sel kulit mati dari epidermis. Berbagai macam bahan yang pernah dicoba sebagai butiran pengampelas mulai dari butiran pasir, biji keras tanaman, sampai butiran abrasiver sintetis. Butiran itu tidak boleh terlalu kasar supaya tidak melukai kulit, terlalu halus sehingga tidak berfungsi sebagai pengampelas, terlalu runcing, dan terlalu bulat sehingga licin dan tidak bekerja sebagai pengampelas (Fauzi dan Nurmalina, 2012).

5. Uraian bahan

a. Lemak kakao (Oleum cacao/lemak coklat)

Lemak coklat adalah lemak coklat padat yang diperoleh dengan pemerasan panas biji *Theobroma cacao* L, yang telah dikupas dan dipanggang. Pemerian lemak padat, putih kekuningan, bau khas aromatik, rasa khas lemak, agak rapuh. Kelarutan sukar larut dalam etanol (95%) P, mudah larut dalam kloroform P, dalam eter P dan dalam eter minyak tanah P. Suhu lebur 31° sampai 34°C. Khasiat dan kegunaannya sebagai zat tambahan (Depkes RI, 1979).

b. Minyak zaitun

Minyak zaitun adalah minyak lemak yang diperoleh dengan pemerasan dingin biji masak *Olea europaea* L. Pemerian cairan, kuning pucat atau kuning kehijauan, bau lemak, bau tengik, rasa khas, pada suhu rendah sebagian atau seluruhnya membeku. Kelarutan sukar larut dalam etanol (95%) P, mudah larut dalam kloroform P, dalam eter P, dan dalam eter minyak tanah P. Khasiat dan kegunaan sebagai zat tambahan (Depkes RI, 1979).

c. Setil alkohol

Setil alkohol mengandung tidak kurang dari 90,0% $C_{16}H_{34}O$, selebihnya terdiri dari alkohol lain yang sejenis. Pemerian serpihan putih licin, granul, atau kubus, putih, bau khas lemah; rasa lemah. Kelarutan tidak larut dalam air, larut dalam etanol dan dalam eter, kelarutan bertambah dengan naiknya suhu (Depkes RI, 2014).

Setil alkohol dalam krim digunakan sebagai bahan pengemulsi dan bahan pengeras dalam sediaan topical (krim). Setil alkohol dapat meningkatkan viskositas krim dan meningkatkan kestabilan sediaan pada emulsi minyak dalam air dengan mengkombinasikannya dengan emulgator yang larut dalam air. Sebagai bahan pengeras, konsentrasi umum yang digunakan adalah 2-10% dan sebagai bahan pengemulsi digunakan konsentrasi 2-5% (American Pharmaceutical Association, 2001).

d. Asam stearat

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 dengan konsentrasi 1-20%. Kelarutan mudah larut dalam benzena, kloroform, eter, dan etanol 95% serta tidak larut dalam air (Rowe *et al.*, 2009).

e. Propil paraben

Dalam FI V (2014) dijelaskan bahwa propil paraben mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0% $C_{10}H_{12}O_3$ dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan. Pemerian serbuk atau hablur kecil dan tidak berwarna. Kelarutan sangat sukar larut dalam air, sukar larut dalam air mendidih, mudah larut dalam etanol dan dalam eter. Sebagai bahan pengawet untuk sediaan topikal digunakan sebanyak 0,01-0,6% (Rowe *et al.*, 2009).

f. Propilenglikol

Berdasarkan FI V (2014), propilenglikol memiliki pemerian berupa cairan kental, jernih, tidak berwarna, rasa khas, praktis tidak berbau, menyerap air pada udara lembab. Kelarutan dapat campur dengan air, dengan aseton, dan dengan kloroform, larut dalam eter dan dalam beberapa minyak esensial, tidak dapat bercampur dengan minyak lemak. Propilenglikol digunakan sebagai solven atau *cosolvent* (untuk membantu meningkatkan kelarutan) pada sediaan topikal dengan konsentrasi 5-80% (b/v) (Rowe *et al.*, 2009).

g. Metil paraben

Metil paraben mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0% $C_8H_8O_3$ dihitung terhadap zat yang dikeringkan. Pemerian hablur kecil, tidak berwarna atau serbuk hablur, putih, tidak berbau atau berbau khas lemah, sedikit rasa terbakar. Kelarutan sukar larut dalam air, dalam benzena dan dalam karbon tetraklorida, mudah larut dalam etanol dan dalam eter (Depkes RI, 2014). Kegunaan dan khasiat sebagai zat pengawet. Sebagai zat pengawet untuk sediaan topikal digunakan sebanyak 0,02-0,3% (Rowe *et al.*, 2009).

h. 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).

i. Tepung beras

Berdasarkan FI III (1979), pati beras adalah pati yang diperoleh dari biji *Oryza sativa* L. Pemerian serbuk sangat halus, putih, tidak berbau, tidak berasa.

j. Aqua destilata (air suling)

Air suling dibuat dengan menyuling air yang dapat diminum (air murni). Akua destilata berupa cairan jernih, tidak berwarna, tidak berbau, tidak mempunyai rasa (BM 18,02). Penyimpanan dalam wadah tertutup baik (Depkes RI, 2014).

k. Vitamin C (Asam askorbat)

Vitamin C mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 100,5% $C_6H_8O_6$. Pemerian berupa hablur atau serbuk, putih atau agak kuning, oleh pengaruh cahaya lambat laun menjadi berwarna gelap. Dalam keadaan kering, stabil di udara, dalam larutan cepat teroksidasi, melebur pada suhu lebih kurang 190⁰. Vitamin C mudah larut dalam air, agak sukar larut dalam etanol, tidak larut dalam kloroform, dalam eter dan dalam benzen (Depkes RI, 2014).

6. Radikal bebas

Menurut Winarti (2010) radikal bebas adalah atom, molekul atau senyawa yang dapat berdiri sendiri yang mempunyai elektron tidak berpasangan, oleh karena itu bersifat sangat reaktif dan tidak stabil. Untuk mencapai kestabilan atom atau molekul radikal bebas akan bereaksi dengan molekul disekitarnya untuk memperoleh pasangan elektron. Reaksi ini berlangsung terus menerus dalam tubuh dan apabila dihentikan akan menimbulkan berbagai penyakit seperti kanker, jantung, katarak, penuaan

dini, serta penyakit degeneratif lainnya. Oleh karena itu tubuh memerlukan antioksidan yang mampu menangkap radikal bebas sehingga tidak dapat menginduksi suatu penyakit (Halliwell dan Gutteridge, 2000); (Kikizaki *et al.*, 2002); Sibuea, 2003).

Radikal bebas dapat terbentuk secara alamiah melalui sistem biologis tubuh dan juga berasal dari lingkungan. Pembentukan radikal bebas terjadi secara terus menerus di dalam tubuh. Hal ini terjadi melalui proses metabolisme sel normal, proses peradangan, kekurangan nutrisi, maupun sebagai respon adanya radiasi sinar gama, ultraviolet (UV), polusi lingkungan dan asap rokok (Wijaya, 1996). Menurut Winarti (2010), faktor yang menyebabkan timbulnya radikal bebas dalam tubuh antara lain sinar X, asap mobil, bahan kimia dalam makanan (pengawet, pewarna sintetik, residu pestisida, dan bahan tambahan makanan lainnya), bahan kimia termasuk obat-obatan.

7. Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (*electron donor*) atau reduktan. Antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif (Winarsi, 2007). Oksidasi merupakan reaksi kimia yang memindahkan elektron dari satu substansi ke agen oksidan. Sebagai pertahanan terhadap kerusakan oksidatif, maka sel dilengkapi dengan berbagai jenis antioksidan yang akan bekerja melalui beragam mekanisme (Masaki, 2010). Suatu antioksidan menstabilkan suatu senyawa radikal dengan cara mendonorkan electron atau atom hydrogen (Singh *et al.*, 2005).

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antioksidan dibedakan menjadi tiga kelompok (Winarsi, 2007), yaitu :

a. Antioksidan primer

Antioksidan primer disebut juga dengan antioksidan endogenus atau antioksidan enzimatik. Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan primer apabila dapat memberikan atom hydrogen secara

cepat kepada senyawa radikal, kemudian radikal yang terbentuk segera berubah menjadi senyawa yang lebih stabil. Enzim-enzim tersebut menghambat pembentukan radikal bebas dengan cara memutus reaksi berantai (polimerasi), kemudian mengubahnya ke produk yang lebih stabil. Contoh antioksidan tipe ini ialah vitamin E, vitamin C, asam α lipoat (ALA), CoQ10, flavonoid, asam urat dan bilirubin.

b. Antioksidan sekunder

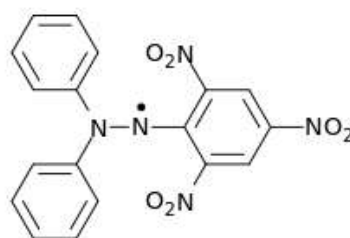
Antioksidan sekunder disebut juga antioksidan eksogenus atau non-enzimatis. Antioksidan kelompok ini disebut juga pertahanan preventif. Dimana terbentuknya senyawa oksigen reaktif dihambat dengan cara dirusak pembentukannya. Mekanisme kerjanya adalah memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas atau dengan menyapu radikal bebas tersebut (*free radical scavenger*). Contoh antioksidan tipe ini ialah transferin, laktoferin, seruloplasmin, dan albumin (Zussman, 2009).

c. Antioksidan tersier

Mekanisme pertahanan tersier dilakukan untuk mencegah penumpukan biomolekul/ perbaikan biomolekular yang rusak akibat reaktifitas radikal agar tidak menimbulkan kerusakan lebih lanjut. Misalnya kerusakan DNA akan diperbaiki oleh enzim metionin sulfaoksida reduktase, protein yang teroksidasi akan diproses oleh sistem enzim proteolitik dan lipid teroksidasi oleh lipase, peroksidase dan sebagainya.

8. Uji penangkapan radikal bebas dengan metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*)

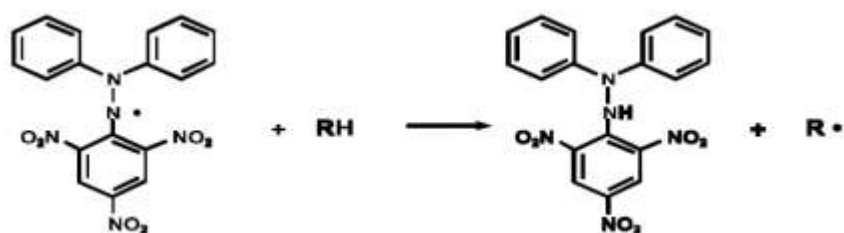
Metode ini merupakan yang paling sering digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan tanaman obat.



Gambar 2.2. Rumus bangun DPPH (Molyneux, 2004).

DPPH merupakan radikal bebas yang dapat bereaksi dengan senyawa yang dapat mendonorkan atom hidrogen, dapat berguna untuk pengujian aktivitas antioksidan komponen tertentu dalam suatu ekstrak. Karena adanya elektron yang tidak berpasangan, DPPH memberikan serapan kuat pada 517 nm. Ketika elektronnya menjadi berpasangan oleh keberadaan penangkap radikal bebas, maka absorbansinya menurun secara stokiometri sesuai jumlah elektron yang diambil. Keberadaan senyawa antioksidan dapat mengubah warna larutan DPPH dari ungu menjadi kuning (Dehpour *et al.*, 2009). Perubahan absorbansi akibat reaksi ini telah digunakan secara luas untuk menguji kemampuan beberapa molekul sebagai penangkap radikal bebas. Metode DPPH merupakan metode yang mudah, cepat dan sensitif untuk pengujian aktivitas antioksidan senyawa tertentu atau ekstrak tanaman (Koleva *et al.*, 2002 dan Prakash *et al.*, 2010).

Parameter untuk menginterpretasikan hasil pengujian dengan metode DPPH adalah IC_{50} (*Inhibition Concentration*). IC_{50} merupakan konsentrasi larutan sampel yang akan menyebabkan reduksi terhadap aktivitas DPPH sebesar 50% (Molyneux, 2004). Nilai IC_{50} berbanding terbalik dengan kemampuan antioksidan suatu senyawa yang terkandung dalam bahan uji. Semakin kecil IC_{50} suatu senyawa uji maka senyawa tersebut semakin aktif sebagai penangkal radikal bebas (Rohman *et al.*, 2005). Suatu senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat jika nilai $IC_{50} < 50$ ppm, antioksidan kuat jika IC_{50} 50–100 ppm, antioksidan sedang jika IC_{50} 100–150 ppm, dan antioksidan lemah jika nilai IC_{50} 151–200 ppm (Blois, 1958).



Gambar 2.3. Reaksi antara radikal DPPH dengan antioksidan (Mun'im *et al.*, 2009)

9. Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri adalah metode untuk analisis baik kuantitatif maupun kualitatif. Prinsip dari pembacaan spektrofotometri adalah jika suatu molekul sederhana dikenakan radiasi elektromagnetik maka molekul tersebut akan menyerap radiasi elektromagnetik yang energinya sesuai. Suatu senyawa dapat dideteksi dengan spektrofotometri adalah jika mempunyai gugus kromofor, yaitu merupakan semua gugus atau atom dalam senyawa organik yang mampu menyerap sinar ultraviolet dan sinar tampak. Senyawa kompleks akan mempunyai serapan pada panjang gelombang yang lebih panjang karena energi radiasi yang dibutuhkan oleh senyawa tersebut lebih kecil dan akan terbaca pada panjang gelombang yang lebih panjang. Oleh karena itu, senyawa kompleks terbaca pada panjang gelombang sinar tampak (Gandjar & Rohman, 2007).

Prinsip penentuan spektrofotometri UV-Vis adalah aplikasi hukum “*Lambert-Beer*” yang menyatakan bahwa intensitas yang diteruskan oleh larutan zat penyerap berbanding lurus dengan tebal dan konsentrasi larutan (Sudjadi, 2007).

$$A = a.b.c$$

Keterangan : A = absorbansi sampel
a = absorptivitas
b = tebal kuvet
c = konsentrasi sampel

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

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 190-350 nm) atau pada daerah sinar tampak (panjang gelombang 350-900 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 (Gandjar dan Rohman, 2007).

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 (panjang gelombang 190-350 nm), sementara lampu halogen kuarsa atau lampu tungsten digunakan untuk daerah visibel (panjang gelombang 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 mengkoreksi pembacaan atau spektrum sampel. Yang paling sering digunakan sebagai blanko dalam spektrofotometri adalah semua pelarut yang digunakan untuk melarutkan sampel atau pereaksi.

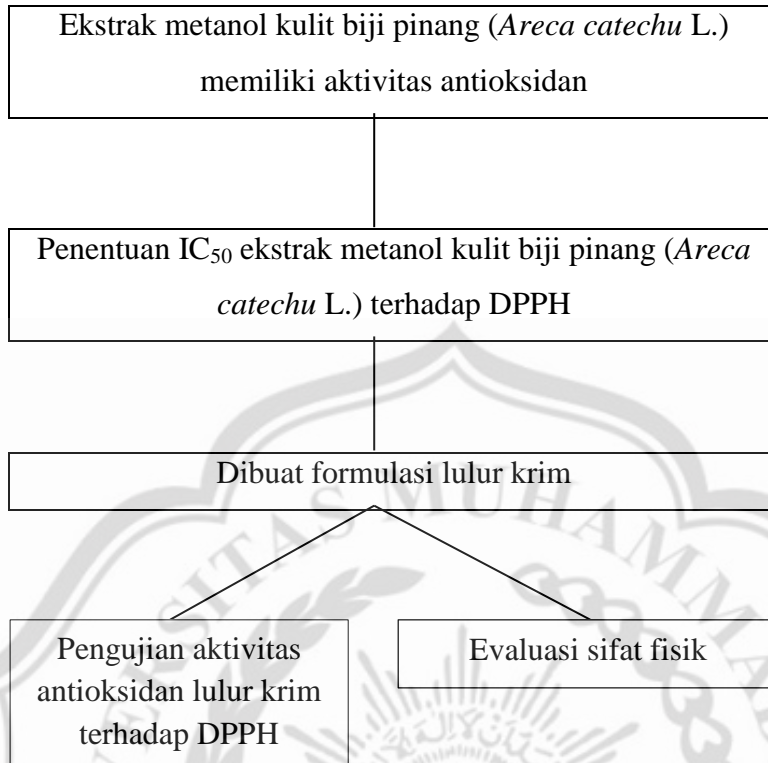
d. Sel absorpsi (Kuvet)

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 (Day dan Underwood, 2002).

e. Detektor

Peranan detektor penerima adalah memberikan respon terhadap cahaya pada berbagai panjang gelombang (Day dan Underwood, 2002).

C. Kerangka Konsep



Gambar 2.4. Kerangka konsep penelitian

D. Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah :

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