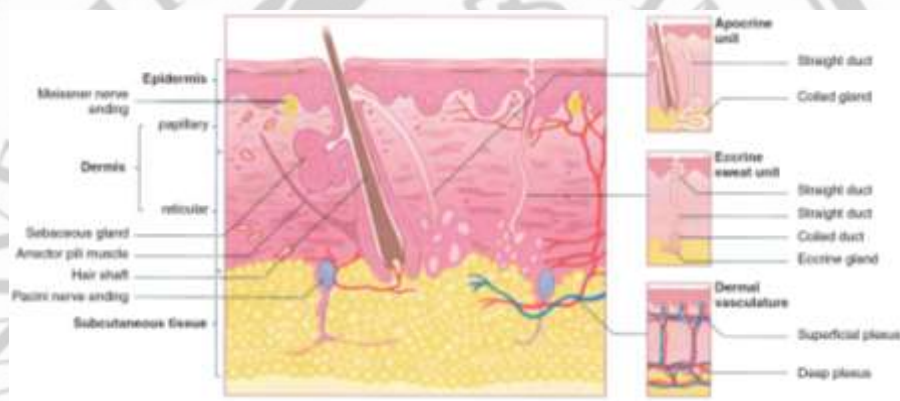


BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Kulit

Kulit merupakan lapisan pelindung tubuh dari berbagai macam gangguan dari lingkungan. Secara histologis, kompartemen kulit terdiri dari epidermis, dermis dan hipodermis. Secara struktural dan fungsional lapisan epidermis dan dermis dipisahkan oleh membran basal (Menon, 2015).



Gambar 1. Struktur Kulit (James *et al.*, 2006)

1. Lapisan Epidermis

Epidermis sebagian besar tersusun atas keratinosit, sebagian kecil melanosit dan sel dendritik seperti sel langerhans. Pada lapisan epidermis bernukleus terdapat serabut saraf yang mempasok impuls. Terdapat tiga lapisan yaitu stratum basal (stem sel maupun posmitotik, terdapat sel perantara yang disebut *transiently amplifying cells*), stratum spinosum (lapisan keringat), stratum granulosum, dan stratum korneum (Menon, 2015).

a. Stratum Basal

Sel basal bertanggung jawab terhadap populasi sel epidermis. Lapisan ini terdiri dari 10% *stem cells*, 50% *amplifying cells* dan 40% *postmitotic cells*. Secara normal, *stem cell* membelah

perlahan, tetapi dalam kondisi tertentu seperti proses penyembuhan dan terpapar oleh *growth factor*, *stem cells* akan membelah dengan cepat. *Amplifying cells* bertanggung jawab terhadap pembelahan sel secara keseluruhan untuk menjadi *postmitotic cells* yang akan bermigrasi ke lapisan lebih atas.

b. Stratum Spinosum

Lapisan ini terdiri dari 5-12 lapisan mengandung granula lamelar, *ceramids*, kolesterol, beberapa enzim seperti protease, fosfatase, lipase dan glikosidase. Granula lamelar mengandung *cathelicidin* dan *peptide* antimikroba. Pada lapisan ini diikat oleh desmosom, yang berfungsi sebagai *filament intermediet* antar sel keratinosit.

c. Stratum Granulosum

Lapisan ini terdiri dari 1-3 lapisan sel granula keratohialin mengandung profilagrin yang merupakan prekursor filagrin. Protein filagrin akan mengalami *cross-link* dengan filament keratin sehingga membentuk struktur yang kuat. Sel granula ini memiliki kemampuan anabolik untuk disolusi inti sel dan organel.

d. Stratum Korneum

Lapisan terdiri dari 15 lapisan yang sudah tidak mengandung organel sel. Bangunan lapisan ini disebut “*brick mortar*”, dimana *brick* merupakan sel keratinosit, sedangkan *mortar* merupakan lipid dan protein yang berasal dari granula lamelar. Lapisan ini banyak mengandung asam amino sehingga punya kemampuan mengikat air. Stratum korneum disebut juga lapisan mati, karena sel sudah tidak mensintesis protein dan tidak dapat menangkap sinyal sel. Fungsi dari lapisan ini sebagai pelindung *transepidermal water loss* (TEWL), kelembaban dan fleksibilitas kulit. Siklus keratinisasi ini berlangsung selama 26-46 hari (Baumann dan Saghari, 2009).

2. Lapisan Dermis

Lapisan dermis terletak dibawah lapisan epidermis. Tersusun atas struktur kolagen, folikel rambut, kelenjar sebacea, kelenjar apokrin, kelenjar ekrin, pembuluh kapiler, pembuluh limfatik dan pembuluh saraf. Sel utama pada lapisan ini adalah sel fibroblas, yang akan menghasilkan kolagen (70-80%) untuk kekenyalan, elastin (1-3%) untuk elastisitas, dan proteoglikan untuk kelembaban (Scott dan Bennion, 2011).

Kolagen pada kulit merupakan kolagen tipe I dan tipe III yang membentuk struktur horizontal di dermis, diselingi oleh serat elastin. Serat oksitalan adalah serat elastin yang ditemukan di papilla dermis membentuk struktur tegak lurus hingga ke permukaan kulit. Proteoglikan terutama asam hialuronat merupakan substansi amorf di sekelilingnya terdapat serat kolagen dan serat elastin (Scott dan Bennion, 2011).

Dengan bertambahnya usia serabut-serabut kolagen menebal dan sintesisnya berkurang sedangkan serabut elastin jumlahnya terus meningkat dan menebal. Pada usia lanjut serabut kolagen saling bersilang dalam jumlah besar dan serabut elastin berkurang menyebabkan kulit terjadi kehilangan kelemasan dan tampak keriput (Perdanakusuma, 2007).

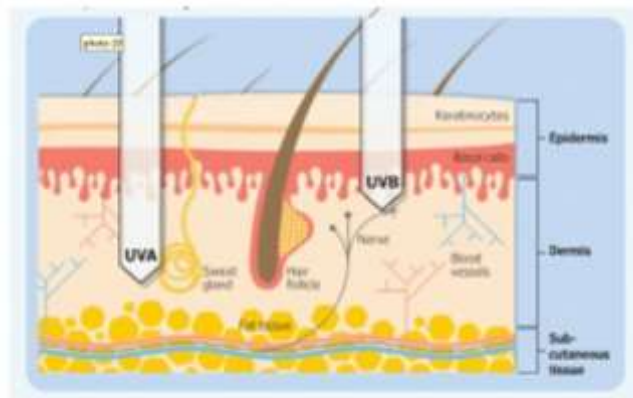
Fungsi lapisan dermis ini adalah sebagai regulasi suhu melalui pembuluh darah dan keringat, proteksi mekanis oleh serat kolagen dan asam hialuronat, serat sensoris yang diatur oleh persyarafan kulit (Scott dan Bennion, 2011).

3. Lapisan Subkutis

Subkutis merupakan lapisan dibawah dermis atau hipodermis yang terdiri dari lapisan lemak. Terdapat jaringan ikat yang menghubungkan kulit secara longgar dengan jaringan dibawahnya. Fungsi lapisan subkutis untuk melekatnya struktur dasar, isolasi panas, cadangan kalori, kontrol bentuk tubuh dan *mechanical shock absorber* (Perdanakusuma, 2007).

B. Sinar Ultraviolet dan Efeknya

Ultraviolet (UV) merupakan suatu radiasi elektromagnetik yang mempunyai panjang gelombang 100-400 nanometer, lebih pendek daripada sinar violet. Ultraviolet memiliki 3 macam panjang gelombang. Daerah ultraviolet dari spektrum elektromagnetik UV A dengan panjang gelombang kisaran 320-400 nm, UV B dengan panjang gelombang kisaran 290-320 nm dan UV C dengan panjang gelombang kisaran 100-290 nm. Radiasi UV C disaring oleh atmosfer sebelum mencapai bumi sehingga tidak menimbulkan efek negatif pada kulit. Radiasi UV B berpenetrasi ke dalam lapisan ozon dan tidak disaring seutuhnya sehingga sebagian masuk ke bumi dan menjadi penyebab dari kerusakan kulit seperti *sunburn*. UV A lebih banyak disaring oleh lapisan ozon dibanding UV B, tetapi radiasi UV A mencapai lapisan terdalam dari epidermis dan dermis yang menyebabkan efek penuaan prematur pada kulit (Ebrahimzadeh *et al.*, 2014).



Gambar 2. Efek Sinar UV Terhadap Kulit (Landro, 2010)

Paparan UV A dan UV B menghasilkan radikal bebas seperti *hydrogen peroxide*, *anion superoxide*, *nitric oxide* sehingga dapat terjadi *reative oxygen species* (ROS). Penurunan antioksidan endogen pada semua lapisan kulit seperti *glutathione* (GSH), *superoxide dismutase*

(SOD), *catalase*, dan *ubiquinol* juga disebabkan karena paparan UV A dan UV B pada kulit (Icihashi *et al.*, 2009).

Intensitas paparan kulit dengan sinar matahari mempengaruhi kerusakan kulit yang terjadi. Efek akut yang sering timbul yaitu inflamasi (eritema), *tanning* dan imunosupresi lokal ataupun serius (Utami, 2009).

a. Eritema

Eritema atau *sunburn* merupakan reaksi inflamasi akut yang ditandai dengan kemerahan setelah terpapar sinar matahari secara berlebihan. Eritema yang terbentuk tergantung panjang gelombang. UV A memiliki dua kategori eritemogenik yaitu UVA 1 dan UVA 2. UVA 2 lebih beresiko menyebabkan eritema dibanding UVA 1. Efektifitas eritema menurun dengan bertambahnya panjang gelombang. Respon eritema lambat (mencapai puncaknya 24 jam tergantung dosis) ditemukan pada kulit yang terpapar UV B. *Minimal erythema doses* (MED) adalah dosis UV yang menyebabkan kemerahan (eritema) minimal, dapat dilihat biasanya 24 jam setelah radiasi. Nilai MED bervariasi tergantung fototipe kulit, warna kulit dan lokasi anatomi individu, sedangkan *standard erythemal dose* (SED) adalah kemerahan yang terjadi dengan paparan UV 100 joule per meter persegi (J/m^2) (Hastiningsih, 2015).

b. Pigmentasi

Reaksi kecoklatan (*tanning*) dan pembentukan melanin baru merupakan respon pigmentasi kulit. Melanisasi yang terjadi akibat paparan kumulatif UV A bertahan lebih lama dibandingkan dengan yang terjadi akibat paparan UV B. Perbedaan ini kemungkinan terjadi akibat lokalisasi pigmen yang diinduksi oleh UV A lebih basal. Melanisasi yang diinduksi oleh UV B menghilang dengan *turn-over* epidermis dalam satu bulan (Fisher *et al.*, 2001; Rigel *et al.*, 2004).

c. Kerusakan DNA

Paparan sinar matahari yang berlebihan dan kronis mampu menembus kulit dengan cara merusak lapisan melanin. Melanin

merupakan pelindung bagi sel kulit, yang mengelilingi permukaan inti sel, menyerap proton dan radikal bebas sebelum bereaksi dengan DNA dan sel-sel lainnya. Rusaknya melanin menyebabkan kerusakan hingga pada tingkat DNA. Kerusakan DNA dapat menyebabkan p53 mengaktifkan *cell-cycle arrest* dan memfasilitasi perbaikan DNA. Tetapi, apabila kerusakan DNA tidak dapat diperbaiki maka p53 akan menstimulasi jalur apoptosis (Baumann dan Saghari, 2009). Radiasi UV A dapat juga mengakibatkan lesi pada DNA walaupun daya rusak lebih lemah dibandingkan UV B (Taylor, 2005; Krutmann, 2011).

C. Tabir Surya

Tabir surya (*sunscreen*) adalah substansi yang formulanya mengandung senyawa aktif yang dapat menyerap, menghamburkan atau memantulkan energi cahaya matahari yang datang pada kulit manusia. Ada dua jenis tabir surya dilihat berdasarkan teknik penggunaannya yaitu tabir surya sistemik dan lokal. Tabir surya sistemik kurang populer karena sering menimbulkan reaksi alergi dan belum terbukti khasiatnya dalam menangkal sinar matahari. Bahan aktif tabir surya yang biasa digunakan pada tabir surya sistemik adalah β karoten, vitamin C, vitamin E, asam salisilat dan obat malaria (Pathak *et al.*, 1987).

Bahan aktif tabir surya terdapat dua jenis yaitu, penghambatan fisik (*physical blocker*) dan penyerap kimia (*chemical absorber*). Bahan aktif penghambat fisik antara lain TiO_2 , ZnO , kaolin, CaCO_3 , dan MgO . Bahan aktif penyerap kimia yaitu anti UV A misalnya turunan benzofenon (oksibenzon dan dibenzoilmetan) serta anti UV B yaitu turunan salisilat, turunan *para amoni benzoic acid* (PABA), turunan sinamat (sinoksat, etil heksil parametoksisinamat). Untuk mengoptimalkan kemampuan tabir surya sering dilakukan kombinasi antara tabir surya fisik dan tabir surya kimia, bahkan ada yang menggunakan beberapa macam tabir surya dalam satu sediaan kosmetik (Wasitaatmadja, 1997).

Mekanisme interaksi tabir surya dengan radiasi UV yaitu refleksi, dispersi dan absorpsi. Mekanisme pada bahan aktif penyerap kimia yaitu absorpsi, dimana bahan aktif berperan sebagai kromofor eksogenus yang menyerap energi foton sehingga molekul tereksitasi. Saat ke keadaan stabil, energi bisa terlepas pada panjang gelombang visibel, pada rentang cahaya ultraviolet (sebagai florosensi) atau pada rentang inframerah (sebagai panas). Proses ini dapat berulang yang disebut resonansi. Menurut dari kapasitas penyerapan panjang gelombang, bahan aktif penyerap kimia dapat diklasifikasikan menjadi 3 yaitu, penyaring UV A, penyaring UV B atau penyaring spektrum luas (UV A dan UV B) (Schalkal dan Reis, 2011).

D. Sun Protecting Factor (SPF)

Kemampuan tabir surya dalam menahan sinar ultraviolet dinilai dalam faktor proteksi cahaya (*Sun Protecting Factor/SPF*). Menurut Bambal *et al* (2014) SPF adalah pengukuran kuantitatif dari efektivitas sediaan tabir surya. Nilai SPF berkisar antara 0-100, dan kemampuan tabir surya dianggap baik apabila diatas 15. Kemampuan tabir surya sebagai berikut:

1. Minimal bila nilai SPF antara 2-4, contoh: salisilat, antranilat.
2. Sedang bila nilai SPF antara 4-6, contoh: sinamat, benzofenon.
3. Ekstra bila nilai SPF antara 6-8, contoh: derivat PABA.
4. Maksimal bila nilai SPF antara 8-15, contoh: PABA.
5. Ultra bila nilai SPF lebih dari 15, contoh: kombinasi PABA, non PABA dan tabir surya fisik.

Nilai SPF dapat ditentukan secara *in vivo* maupun *in vitro*, dilihat dari perbandingan nilai dosis eritema minimum (DEM) pada kulit manusia yang terlindung tabir surya dengan DEM tanpa perlindungan. Dosis eritema minimum adalah nilai yang menunjukkan sensitivitas akut individu terhadap sinar UV. DEM ini menunjukkan jumlah minimal sinar UV yang dibutuhkan untuk menimbulkan kemerahan ketika seseorang terpapar sinar UV (Zulkarnain, 2013).

Pengujian aktivitas serapan sinar UV secara *in vitro* dapat dilakukan dengan teknik spektroskopi UV yang diukur pada panjang gelombang ultraviolet 200-400 nm (Tahir *et al.*, 2002). Metode yang digunakan adalah seperti yang digunakan oleh Mansur *et al* (1986) dalam Bambal *et al* (2011) dengan persamaan sebagai berikut:

$$\text{SPF}_{\text{spectrophotometric}} = CF \times \int_{290}^{320} EE(\lambda) \times I(\lambda) \times \text{Abs}(\lambda) \quad (1)$$

CF = Faktor koreksi (10)

EE = Spektrum efek eritema

I = Intensitas spektrum sinar

Abs = Absorbansi

E. Sirsak (*Annona muricata L.*)

Annona muricata L. atau yang lebih dikenal dengan graviola, sirsak atau korosol, termasuk kedalam famili *Annonaceae*. Tanaman sirsak banyak tumbuh di daerah tropis. Semua bagian dari pohon sirsak dapat digunakan sebagai obat, mulai dari ranting, daun, akar, buah, dan biji (Pieme *et al.*, 2014).



Gambar 3. a. Tanaman Sirsak (Haryoto, 1998)

b. Daun Sirsak (koleksi pribadi)

1. Klasifikasi Tanaman

Kingdom : Plantae

Divisi : Spermatophyta

Class : Dicotyledonae

Ordo : Ranunculales

Family : Annonaceae

Genus : *Annona*

Spesies : *Annona muricata L.* (Syamsuhidayat, 1991)

2. Morfologi

Tanaman sirsak berbentuk pohon, tingginya mencapai 3-8 meter. Daunnya mengkilap dan warnanya hijau tua. Seluruh tanaman apabila digores mengeluarkan bau yang sama, bau khas sirsak. Bunganya yang majemuk keluar dari ranting-ranting ketiak atau langsung dari batang. Bunga berkelamin dua, serbuk sarinya banyak sedangkan bakal buah dan bakal bijinya hanya satu. Bentuk buah lonjong, ujungnya sering bengkok atau berbentuk jantung. Buahnya majemuk dan dibentuk oleh sejumlah bakal buah yang menjadi satu. Kulitnya cukup tebal, namun tidak alot, berduri lemas dan agak bengkok (Rismunandar, 1990).

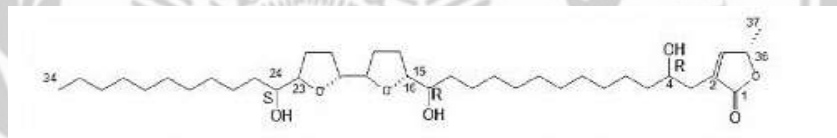
3. Kandungan Kimia

Senyawa antioksidan berperan penting dalam pertahanan seluler terhadap *reactive oxygen species* (ROS). Kandungan antioksidan dan penangkal radikal bebas dari daun sirsak banyak terdapat pada daun sirsak segar dibanding daun sirsak kering. *Annonaceous acetogenins*, lakton dan isoquinolin, alkaloid, tannin, dan kumarin adalah beberapa senyawa bioaktif yang ada pada daun *Annona muricata* (Muthu dan Durairaj, 2015).

Senyawa antioksidan dapat digunakan untuk meminimalisir aktivitas radikal bebas dan melindungi kulit dari radiasi sinar UV karena adanya kandungan polifenol dalam senyawa. Senyawa yang

mengandung cincin aromatik dapat mengabsorpsi sinar UV khususnya UV A dan UV B pada panjang gelombang 200-400 nm. Beberapa senyawa aktif antioksidan seperti flavonoid, tannin, antraquinon, sinamat, dan lain-lain telah dilaporkan memiliki kemampuan sebagai pelindung terhadap sinar UV (Mishra et al., 2012).

Ekstrak daun sirsak dilaporkan memiliki senyawa asetogenin yang memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi dan bersifat toksik pada sel PACA-2, PC-3, A-549, Hep-G2 (Saraswaty, 2013). *Annonaceous* asetogenin yang berdekatan maupun yang tidak berdekatan dengan cincin tetrahidrofuran (THF), tetrahidropiran (THP), dan cincin c-lakton berasal dari ikatan ganda banyak ditemukan pada tanaman sirsak terutama pada daun (Rajeswari et al., 2012).



Gambar 4. Struktur dasar Acetogenins (Zuhud, 2011)

Rasa khas sirsak dibentuk dari maksimal 114 komponen volatil yang terdiri dari 44 ester, 25 terpen, 10 alkohol, 9 aldehid dan keton, 7 komponen aromatik, 5 hidrokarbon, 3 asam, 3 lakton, dan 8 komponen yang bermacam-macam (Muthu dan Durairaj, 2015).

4. Manfaat dan Efek Farmakologi

Manfaat tanaman sirsak sudah lama dipercaya dapat menyembuhkan penyakit. Buah sirsak atau jus buah sirsak dapat digunakan sebagai obat cacing dan parasit, penurun demam, meningkatkan produksi ASI setelah melahirkan, diare, dan disentri. Kulit batang, daun, dan akarnya digunakan sebagai obat antispasmodik, hipertensi, batuk, influenza, asma, astenia (lemah dan kurang tenaga), anti jamur, dan anti parasit.

Secara klinis khasiat tanaman sirsak yaitu sebagai antivirus, anti kanker, anti diabetes, anti kejang, penurun tekanan darah, dan antibakteri. Hasil penelitian Wu *et al* tahun 1995 menunjukkan *annonaceous acetogenin* selektif sebagai agen sitotoksik terhadap sel tumor paru-paru manusia. Penelitian lebih lanjut dilakukan oleh Wu, 2001, bahwa senyawa muricins A-G, yaitu senyawa turunan asetogenin efektif mengatasi tumor (Zuhud, 2011).

F. Krim

1. Definisi

Krim adalah sediaan setengah padat diperuntukan untuk pemakaian luar, biasanya berupa emulsi kental dan mengandung tidak kurang dari 60% air (Anief, 2008). Tipe krim ada dua yaitu krim tipe air dalam minyak (cold cream) dan krim tipe minyak dalam air (vanishing cream). Bahan-bahan penyusun dalam krim terdiri dari zat berkhasiat, fase minyak, fase air, dan bahan pengemulsi. Bahan pengemulsi harus mempunyai kualitas tertentu, antara lain harus bisa dicampurkan dengan bahan lainnya, tidak mengganggu efikasi zat aktif, tidak toksik, harus stabil, dan tidak terurai dalam sediaan (Ansel, 2008).

Pembuatan sediaan krim meliputi proses peleburan dan proses emulsifikasi. Komponen fase minyak seperti minyak dan lilin dicairkan di atas penangas air, sedangkan komponen fase air dipanaskan sampai kira-kira mencapai suhu yang sama dengan fase minyak. Kemudian kedua fase dicampur dan diaduk perlahan-lahan sampai campuran dingin dan membentuk basis krim. Apabila fase air tidak sama temperaturnya dengan fase minyak maka beberapa lilin akan menjadi padat (Ansel, 1989).

2. Bahan Pembuatan Sediaan Krim

a. Cera Alba

Cera alba atau malam putih dibuat dengan cara memutihkan malam yang diperoleh dari sarang lebah *Apis mellifera* L atau spesies *Apis* lain. Pemerian bahan berupa zat padat, lapisan tipis bening, putih kekuningan, bau khas lemah. Kelarutan: praktis tidak larut dalam air, agak sukar larut dalam etanol (95%) P dingin, larut dalam klorofom P, dalam eter P hangat, dalam minyak lemak dan dalam minyak atsiri. Suhu lebur 62 °C sampai 64 °C (Depkes RI, 1979).

b. Asam Stearat

Asam stearat adalah campuran asam organik padat yang diperoleh dari lemak sebagian besar terdiri dari asam oktadekanoat, $C_{18}H_{36}O_2$ dan asam heksadekanoat, $C_{16}H_{32}O_2$ (Ditjen POM, 1979). Asam stearat dalam vanishing cream berfungsi sebagai pengemulsi. Konsentrasi yang biasa digunakan dalam krim berkisar 1-20% (Rowe *et al.*, 2009). Pemerian asam stearat berupa zat padat keras mengkilat menunjukkan susunan hablur, putih atau kuning pucat, mirip lemak lilin. Kelarutan: praktis tidak larut dalam air, larut dalam 20 bagian etanol (95%) P, dalam 2 bagian klorofom P, dan dalam 3 bagian eter. Suhu lebur 54 °C. Titik didihnya 384 °C (Depkes RI, 1979).

c. Parafin Cair

Parafin cair adalah campuran hidrokarbon yang diperoleh dari minyak mineral. Pemerian bahan berupa cairan kental, transparan, tidak berfluoresensi, tidak berwarna, hampir tidak berbau dan tidak mempunyai rasa. Kelarutan dalam air dan dalam etanol 95% pekat praktis tidak larut, larut dalam klorofom pekat dan dalam eter pekat (Depkes RI, 1979).

d. Tween 80

Polyoxyethylene 80 sorbitan monoleat atau lebih dikenal sebagai Tween 80 merupakan cairan seperti minyak, jernih berwarna coklat muda hingga coklat muda, bau khas lemak, rasa manis dan hangat. Kelarutan: sangat mudah larut dalam air, larutan tidak berbau dan praktis tidak berwarna, larut dalam etanol, dalam etil asetat, tidak larut dalam minyak mineral, mempunyai bobot jenis antara 1,06 dan 1,09 dan kekentalan antara 300 dan 500 sentistokes pada suhu 25 °C (Depkes RI, 1995).

e. Setil Alkohol

Setil alkohol mempunyai rumus molekul $C_{16}H_{34}O$ dengan berat molekul 242,44. Pemerian setil alkohol berupa serpihan putih atau granul seperti lilin, berminyak memiliki bau dan rasa yang khas. Kelarutan: mudah larut dalam etanol (95%) dan eter, kelarutannya meningkat dengan peningkatan temperatur, serta tidak larut dalam air. Kegunaannya sebagai emolien dan pengemulsi (*Excipient 6th*, 2009: 156). Dalam *cold cream*, penggunaan cera alba dan setil alkohol bisa meningkatkan konsistensi dari krim tipe air dalam minyak (Rowe *et al.*, 2009).

f. Gliserin

Gliserin merupakan trihidroksi alkohol yang terdiri atas tiga atom karbon. Gliserin yang diperoleh dari hasil penyabunan lemak atau minyak adalah suatu zat cair yang tidak berwarna dan mempunyai rasa yang agak manis, larut dalam air dan tidak larut dalam eter (Poedjiadi, 2006).

Pemerian bahan berupa cairan seperti sirup, jernih, tidak berwarna, tidak berbau, manis diikuti rasa hangat. Bersifat higroskopik. Jika disimpan lama pada suhu rendah dapat memadat membentuk masa hablur yang tidak berwarna yang tidak melebur pada suhu mencapai kurang dari 20 °C (Depkes RI, 1979).

g. Metil Paraben

Metil paraben memiliki sinonim aseptoform, metil hidroksi benzoate, metil para hidroksi benzoat, nipagin, solbrol, metagin. Kegunaanya sebagai pengawet antimikroba untuk sediaan kosmetik, produk makanan dan sediaan farmasi. Konsentrasi yang digunakan untuk sediaan topikal adalah 0,02-0,3% (Rowe *et al.*, 2009).

Pemerian bahan berupa hablur halus, putih, hampir tidak berbau, tidak mempunyai rasa, kemudian agak membakar diikuti rasa tebal. Kelarutan: larut dalam 500 bagian air, dalam 20 bagian air mendidih, dalam 3,5 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 (Depkes RI, 1979).

h. Aquades

Aquades berasal dari air murni yang mengalami penyulingan dan bebas dari kotoran maupun mikroba. Kegunaanya sebagai pelarut dalam formulasi, bahan aktif, dan reagen analitikal dalam farmasi (Rowe, 2009). Aquades dibuat dengan cara menyuling air yang dapat diminum. Pemerian bahanya berupa cairan jernih, tidak berwarna, tidak berbau, tidak mempunyai rasa (Depkes RI, 1979).

G. Spektrofotometri UV-Vis

Spektroskopi adalah studi tentang interaksi energi cahaya dengan materi. Konsentrasi larutan berwarna diukur dengan melihat absorbansi sinar. Konsentrasi larutan dalam daerah tampak dapat ditentukan dengan tiga teknik yaitu kolorimetri atau kolorivisual, fotometri, dan spektrofotometri. Spektrofotometer menghasilkan sinar dari spektrum panjang gelombang tertentu, dan fotometer adalah alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan, direfleksikan atau cahaya yang diabsorbansi.

Jadi kegunaan spektrofotometer adalah mengukur energi cahaya relatif jika energi tersebut ditransmisikan, direfleksikan atau diemisikan sebagai fungsi dari panjang gelombang (Khopkar, 1990).

Prinsip kerja Spektrofotometri UV-Vis berdasarkan penyerapan cahaya atau energi radiasi oleh suatu larutan. Jumlah cahaya atau energi radiasi yang diserap memungkinkan pengukuran jumlah zat penyerap dalam larutan secara kuantitatif (Triyati, 1985). Semua molekul dapat mengabsorbansi radiasi dalam daerah UV dan visibel karena mereka mengandung elektron baik sekutu maupun menyendiri. Elektron ini dapat dieksitasi ke tingkat energi yang lebih tinggi. Panjang gelombang dimana absorbansi itu terjadi, bergantung pada berapa kuat elektron itu terikat dalam molekul itu. Apabila elektron dalam suatu ikatan kovalen tunggal dan kuat, maka diperlukan energi yang tinggi dan panjang gelombang yang pendek untuk dia dapat tereksitasi (Day dan Underwood, 1999).

Konsentrasi dari analit di dalam larutan bisa ditentukan dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang tertentu dengan menggunakan hukum Lambert-Beer (Pratama dan Zulkarnain, 2015). Hukum Lambert-Beer menyatakan bahwa intensitas yang diteruskan oleh larutan zat penyerap berbanding lurus dengan tebal dan konsentrasi larutan.

$$A = a.b.c \quad (2)$$

Keterangan:

- A = absorben
- a = absorptivitas molar
- b = tebal kuvet (cm)
- c = konsentrasi

Absorptivitas molar merupakan suatu konstanta yang tidak tergantung pada konsentrasi, tebal kuvet, dan intensitas radiasi yang mengenai larutan sampel. Absorptivitas molar tergantung pada suhu,

pelarut, struktur molekul, dan panjang gelombang radiasi. Dalam hukum Lambert-Beer berlaku syarat sebagai berikut:

1. Sinar yang digunakan dianggap monokromatis.
2. Penyerapan terjadi dalam satu volume yang mempunyai penampang luas yang sama.
3. Senyawa yang menyerap dalam larutan tersebut tidak tergantung terhadap yang lain dalam larutan tersebut.
4. Tidak terjadi peristiwa fluoresensi atau fosforisensi.
5. Indeks bias tidak tergantung pada konsentrasi larutan.

Banyaknya radiasi yang diserap oleh suatu molekul sangat mudah diukur dengan metode Spektrofotometri UV-Vis. Molekul dengan struktur kimia yang berbeda, memiliki absorpsi yang juga berbeda. Dengan demikian spektrofotometri UV-Vis dapat digunakan untuk analisis kualitatif. Spektrofotometri UV-Vis juga dapat digunakan untuk analisis kuantitatif berdasarkan banyak sinar yang diabsorpsi pada panjang gelombang tertentu sebanding dengan banyaknya molekul yang menyerap radiasi (Gandjar, 2007). Metode Spektrofotometri ultra-violet dan sinar tampak telah banyak diterapkan untuk penetapan senyawa-senyawa organik yang umumnya dipergunakan untuk penentuan senyawa dalam jumlah yang sangat kecil (Skoog dan West, 1971).