

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Perubahan iklim mengacu pada perubahan cuaca global yang terjadi dalam jangka waktu yang lama. Perubahan ini meliputi suhu, curah hujan, angin kencang dan awan tebal. Perubahan iklim telah meningkat pesat dalam beberapa tahun terakhir. Dapat menimbulkan dampak negatif terhadap kesehatan manusia seperti permasalahan pada kulit yang diakibatkan adanya suhu yang cukup tinggi (Bharath *et al.*, 2009). Indonesia beberapa tahun terakhir ini sedang mengalami global warming dengan adanya suhu yang meningkat dan curah hujan yang tidak menentu. Sejumlah wisatawan yang berkunjung ke Bali untuk melakukan *tanning* dengan berjemur dibawah sinar matahari. Sehingga dapat menyebabkan beberapa masalah pada kulit, salah satunya kulit terbakar atau sunburn yang disebabkan oleh sinar UV (Krisnayanti *et al.*, 2021).

Sinar ultra violet (UV) dapat digolongkan menjadi UV A dengan panjang gelombang diantara 320 – 400 nm, UV B dengan panjang gelombang 290 – 320 nm dan UV C dengan panjang gelombang 10 – 290 nm. Sinar UV C adalah sinar dengan energi tertinggi, paling berbahaya diantara sinar ultraviolet lainnya. Pada penelitian Makiyah dan Nofariyandi, (2014) menyatakan bahwa semakin lama paparan lampu ultraviolet C, maka semakin besar aktivitas proliferasi sel epidermis kulit mencit ditunjukkan dengan peningkatan indeks mitotik sel epidermis kulit mencit. Peningkatan indeks mitotik ini yang menyebabkan kanker pada kulit yang diakibatkan terbentuknya *Reactive Oxygen Species* (ROS) pada kulit (Makiyah & Nofariyandi, 2014).

ROS adalah mediator yang berperan pada kerusakan intraseluler lipid, protein, karbohidrat, dan asam nukleat, bersifat sangat reaktif karena kondisinya tidak stabil (memiliki elektron yang tidak berpasangan). Senyawa ROS adalah senyawa organik yang memiliki gugus fungsional dengan atom oksigen yang bermuatan elektron lebih. Apabila ROS berlebihan dalam tubuh kita maka

menyebabkan terjadinya stres oksidatif (Ikrima *et al.*, 2019). Pada penelitian Berawi dan Surbakti, (2016) menyatakan bahwa adanya ROS pada kulit akibat radiasi sinar UV-B meningkatkan ekspresi *protein aktivator-1* (AP-1). Meningkatnya AP-1 akan meningkatkan *metalo proteinase matriks-1* (MMP), yang kemudian MMP-1 akan memecah kolagen tipe-1. Rusaknya kolagen tipe-1 akan menurunkan produksi kolagen sehingga menimbulkan keriput pada kulit, disamping itu tingginya ROS juga menyebabkan naiknya kadar *malondialdehyde* (MDA) Sehingga solusi untuk mengurangi stress oksidatif ini dapat diperlukannya senyawa antioksidan.

Antioksidan adalah molekul atau senyawa yang cukup stabil untuk mendonorkan elektron atau hidrogennya kepada molekul atau senyawa radikal bebas dan menetralkannya, sehingga mengurangi kemampuannya untuk melakukan reaksi berantai radikal bebas (Ibroham dan Kumalasari, 2022). Pada penelitian Simanjuntak, (2012) menyatakan bahwa Senyawa flavonoid yang dikonsumsi mempunyai efek aditif terhadap pembersihan radikal bebas. Flavonoid dapat mencegah kerusakan sel yang disebabkan oleh radikal bebas. Menetralkan radikal bebas oleh flavonoid menghasilkan zat yang stabil diketahui bahwa aktivitas dari gugus flavonoid yang tinggi dapat melindungi stres oksidatif sel yang berfungsi sebagai antioksidan.

Flavonoid yaitu metabolit sekunder dari polifenol, ditemukan secara luas pada tanaman serta makanan dan memiliki berbagai efek bioaktif termasuk anti virus, anti-inflamasi, kardioprotektif, anti diabetes, anti kanker, anti penuaan dan antioksidan. Salah satu senyawa yang dapat digunakan sebagai antioksidan yaitu daun bayam hijau (Arifin, 2018). Pada penelitian Handayani *et al.*, (2023) menyatakan bahwa hasil pengujian kuantitatif menggunakan spektrofotometri Uv-Vis ekstrak daun bayam hijau dengan memiliki kadar flavonoid sebesar 6,893 mg QE/g.

Selain kandungan flavonoid, daun bayam hijau juga memiliki kandungan fenol, saponin, tanin yang berfungsi sebagai antioksidan, antimikroba dan anti-inflamasi. Menurut penelitian Handayani *et al.*, (2023) menyatakan bahwa daun

bayam hijau terdapat warna hijau kehitaman dengan hasil positif memiliki kandungan senyawa fenol, terdapat berbentuk buih dengan hasil positif memiliki kandungan senyawa saponin, terdapat coklat kehitaman dengan hasil positif memiliki kandungan senyawa tanin. Pada penelitian Puspitasari, Yuita dan Sumantri, (2017) menyatakan bahwa ekstrak etanol daun kopi arabika mengandung senyawa flavonoid yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak daun kopi arabika diperoleh nilai IC_{50} sebesar 3,578 $\mu\text{g/ml}$, sedangkan kuersetin diperoleh nilai IC_{50} sebesar 15,09 $\mu\text{g/ml}$. Hasil uji aktivitas antioksidan sediaan krim ekstrak etanol daun kopi arabika Formula 1, Formula 2, dan Formula 3 menunjukkan persen aktivitas antioksidan berturut-turut sebesar 21,390; 26,152; dan 37,097 %. Variasi konsentrasi ekstrak dalam formulasi sediaan krim memberikan pengaruh signifikan terhadap sifat fisika dan kimia krim.

Krim adalah bentuk sediaan setengah padat berupa emulsi kental yang mengandung bahan dasar yang sesuai dan mengandung air tidak kurang dari 60%, ada 2 jenis tipe krim yaitu krim tipe minyak dalam air (m/a) dan air dalam minyak (a/m). Sediaan krim m/a mempunyai pengaruh dalam jumlah dan kecepatan zat aktif yang diabsorpsi. Selain itu, basis krim tipe m/a dapat meningkatkan dan memperbaiki kelembaban kulit sehingga kandungan air pada kulit lebih baik dan kulit pun menjadi kenyal dan lentur. Bahwa krim dapat digunakan sebagai peredam sinar UV (Husni, Pratiwi dan Baitariza, 2019).

Pada penelitian ini penulis memilih daun bayam hijau sebagai formulasi krim wajah karena daun bayam hijau memiliki kandungan nutrisi yang banyak didalamnya untuk perawatan kulit terutama kandungan vitamin E dan flavanoid yang ada pada bayam, sehingga bayam efektif berfungsi sebagai antioksidan yang melawan penuaan (Rahmawati *et al.*, 2018).

Berdasarkan uraian diatas, maka penulis bertujuan untuk mengetahui Formulasi sediaan krim wajah ekstrak etanol daun bayam hijau (*Amaranthus Hybridrus L.*) terhadap aktivitas antioksidan.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dari penelitian ini yaitu “Apakah kategori aktivitas antioksidan pada formulasi krim ekstrak etanol daun bayam hijau ?”

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini yaitu “Untuk menentukan kategori aktivitas antioksidan dari formulasi krim ekstrak etanol daun bayam hijau”

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat teoritis

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah dan sebagai tambahan ilmu pengetahuan tentang aktivitas antioksidan dari formulasi sediaan ekstrak etanol daun bayam hijau (*Amaranthus Hybridrus L.*) dengan metode DPPH.

1.4.2 Manfaat praktis

Bagi masyarakat umum, diharapkan hasil penelitian ini dapat menjadi dasar pengetahuan dan pemahaman mengenai efek dari daun bayam yang selama ini kaya akan nilai gizi yang tinggi dapat digunakan untuk melindungi tubuh dari dampak radikal bebas, rendahnya resiko dari penyakit degeneratif dan penuaan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Bayam Hijau (*Amaranthus Hybridus L.*)

Tumbuhan bayam hijau (*Amaranthus Hybridus L.*) adalah tanaman yang termasuk kedalam famili amaranthaceae dan juga disebut tanaman herba tahunan. Daun tanaman ini banyak dikonsumsi oleh masyarakat sebagai sayuran hijau. Secara tradisional biasanya tanaman ini dijadikan sebagai sup atau obat penambah darah (Adegbola *et al.*, 2020).

Tumbuhan bayam yaitu tanaman yang memiliki suatu adaptasi yang memungkinkan untuk melakukan fotosintesis dengan lebih efisien dalam kondisi lingkungan yang panas, kering, atau bercahaya tinggi dan mampu mengikat gas CO₂. Bayam memiliki siklus hidup yang relatif sangat singkat, umur panen dari tanaman ini yaitu 3-4 minggu. Sistem dari akarnya termasuk dalam akar tunggang, dengan cabang akar berbentuk bulat panjang (Ibrahim, 2021).

Tanaman ini tahan terhadap pencahayaan langsung dengan memiliki batang berair, daun bertangkai, berbentuk bulat telur, lemas, berwarna hijau, merah atau hijau keputihan. Bunga tersusun majemuk tipe tukal yang rapat, bagian bawah duduk di ketiak, bagian atas berkumpul menjadi karangan bunga di ujung tangkai dan ketiak percabangan. Bijinya berwarna hitam, kecil dan keras. Bayam termasuk tanaman setahun atau lebih yang berbentuk perdu (terna) dan tingginya dapat mencapai kurang lebih 1/5 meter. Sistem perakarannya menyebar dangkal pada kedalaman antara 20 - 40 cm, dan memiliki akar tunggang (Ibrahim, 2021).



Gambar 2.1 Tanaman bayam hijau (Adegbola *et al.*, 2020).

2.2 Kandungan dan manfaat bayam

a. Kandungan Bayam

Kandungan dalam 100 gram bayam yang terdapat beberapa kandungan nutrisi yaitu; 2,3 gram protein; 3,2 gram karbohidrat; 3 gram zat besi; 81 gram kalsium. Bayam juga memiliki beberapa vitamin dan mineral yang terkandung didalamnya yaitu; Vitamin A; Vitamin C; niasin; thiamin; fosfor; riboflavin; natrium; kalium dan magnesium. Selain itu juga memiliki kandungan senyawa flavanoid, fenol, saponin, tanin dan alkaloid yang berfungsi sebagai antioksidan, anti-inflamasi dan antidiabetes. (Rianto & Ahmad, 2017).

b. Manfaat Bayam

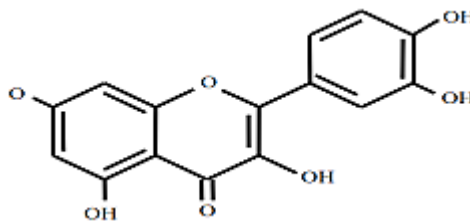
Mengandung nilai gizi yang cukup tinggi bayam juga dapat dimanfaatkan sebagai obat untuk berbagai macam penyakit, kandungan vitamin A didalam bayam dapat digunakan untuk meningkatkan daya tahan tubuh dalam menanggulangi penyakit mata, vitamin C yang terkandung dalam bayam dapat membantu menyembuhkan sariawan, zat besi dapat menyembuhkan penyakit anemia atau anemia gizi besi (Nasution, 2016).

2.3 Kandungan Kimia

2.3.1 Senyawa Flavanoid

Flavonoid merupakan metabolit sekunder polifenol yang terdapat pada tumbuhan dan memiliki berbagai aktivitas biologis, termasuk sifat antioksidan. Senyawa flavonoid terdiri dari kerangka karbon yang terdiri dari dua gugus C₆

(cincin benzena tersubstitusi) yang dihubungkan melalui rantai alifatik tiga karbon. Senyawa flavonoid mengandung senyawa polifenol dengan susunan 15 atom karbon. Flavonoid memiliki kemampuan untuk mengalami peredaman radikal bebas dengan menyumbangkan elektron ke radikal bebas sehingga menjadikan non-radikal (Bustanul & Sanusi, 2018).

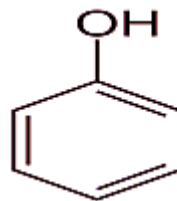


Sumber : Kayaputri *et al.*, (2014)

Gambar 2.2 Kerangka Flavanoid

2.3.2 Senyawa Fenolik

Senyawa fenolik memiliki satu atau lebih atom hidroksida aromatik (OH). Atom OH dalam struktur fenolik bertindak sebagai donor radikal dan senyawa ini berguna sebagai antioksidan, anti kanker, antiinflamasi, antimikrobia, melindungi dari penyakit jantung, dan lain sebagainya [4]. Dalam peranannya sebagai antioksidan, senyawa fenolik mampu menurunkan ROS (Reactive Oxygen Species) karena memiliki banyak gugus hidroksil (polifenol) dimana gugus hidroksil (-OH) tersebut akan bereaksi sebagai antioksidan dengan memutus rantai radikal bebas (Mahardani *et al.*, 2021).

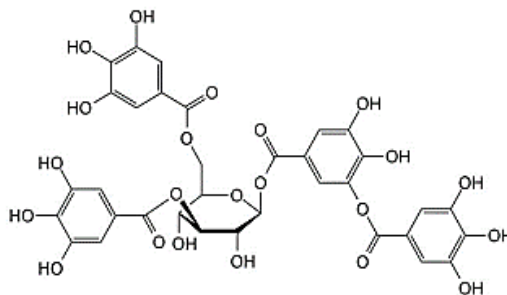


Sumber : Iflahah, Puspawati & Suaniti (2016)

Gambar 2.3 Kerangka Fenolik

2.3.3 Senyawa Tanin

Tanin merupakan senyawa polifenol yang dapat mengikat senyawa kompleks dengan struktur makromolekul. Senyawa tanin terdapat pada kulit kayu, batang, daun, dan buah (Dewi, Ganda Putra & Wrsiati, 2021). Tanin merupakan senyawa aktif metabolit sekunder yang diketahui mempunyai beberapa khasiat yaitu sebagai astringen, anti diare, anti bakteri dan antioksidan. Tanin merupakan komponen zat organik yang sangat kompleks, terdiri dari senyawa fenolik yang sukar dipisahkan dan sukar mengkristal. Tanin dibagi menjadi dua kelompok yaitu tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin memiliki peranan biologis yang kompleks mulai dari pengendap protein hingga pengkhelat logam. Tanin juga dapat berfungsi sebagai antioksidan biologis (Liberty *et al.*, 2012).



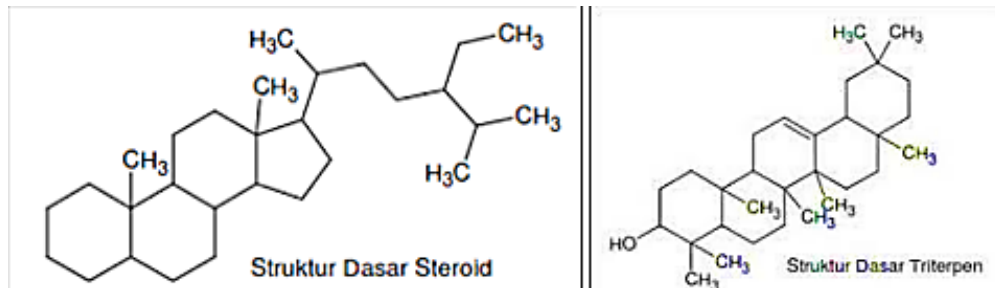
Sumber : Hidjrawan Yusi, (2018)

Gambar 2.4 Kerangka Tanin

2.3.4 Senyawa Saponin

Saponin merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam tanaman. Senyawa ini tergolong kelompok komponen organik yang memiliki kapasitas steroid yang baik. Semua organ tumbuhan seperti buah, bunga, daun, batang dan akar dapat ditemukan senyawa metabolit sekunder saponin (Ngginak, J., Apu, M. T., & Sampe, R. 2021). dan saponin merupakan senyawa tumbuhan yang termasuk ke dalam golongan terpenoid, yakni senyawa

yang mengandung kerangka isoprena $\text{CH}_2=\text{C}(\text{CH}_3)-\text{CH}=\text{CH}_2$ (Mustikasari, K., & Ariyani, D 2008).



Sumber : Putri, P. A., Chatri, M., & Advinda, L. (2023).

Gambar 2.5 Kerangka Saponin

2.4 Krim

Krim merupakan sediaan farmasi yang mengandung satu atau lebih bahan obat yang terdispersi dengan baik dalam bentuk minyak dalam air (M/A), atau bentuk air dalam minyak (A/M), sediaan ini mengandung air tidak kurang dari 60%. Ditujukan untuk pemakaian topikal pada kulit bagian luar, dan dalam industri farmasi kebanyakan produksi krim dalam sediaan topikal pada kulit, karena lebih banyak diminati (Haerani, 2017).

Komponen krim terdiri dari bahan dasar, bahan aktif dan bahan tambahan. Bahan dasar terdiri dari fase minyak, fase air dan emulgator atau surfaktan. Emulgator dan surfaktan berfungsi untuk menurunkan tegangan permukaan antara kedua fase yang tidak saling bercampur, sedangkan bahan tambahannya dapat meliputi pengawet, pengkhelet, pelembab, pewarna dan pewangi untuk menjamin krim yang dibuat memenuhi standar maka dilakukan uji sifat fisik dan stabilitas (Mektildis, 2018).

Emulsi merupakan campuran dari fase air dan fase minyak, sehingga dibutuhkan emulgator untuk membentuk emulsi yang baik yaitu keadaan dimana kedua fase dapat bergabung. Tanpa adanya emulgator yang sesuai maka emulsi dapat membentuk *creaming*, *flokulasi*, *koalesensi*, dan *inversi* yang disebut ketidakstabilan emulsi.

Zat pengemulsi (emulgator) adalah komponen yang ditambahkan untuk mereduksi bergabungnya tetesan dispersi dalam fase kontinyu sampai batas yang tidak nyata. Bahan pengemulsi (surfaktan) menstabilkan dengan cara menempati antar permukaan antar tetesan dalam fase eksternal, dan dengan membuat batas fisik disekeliling partikel yang akan berkoalesensi, juga mengurangi tegangan antar muka antar fase, sehingga meningkatkan proses emulsifikasi selama pencampuran. Penggunaan emulgator biasanya diperlukan 5% – 20% dari berat fase minyak (Rusmin, R., 2021).

Emulgator dapat dibagi menjadi dua kelompok menurut asalnya, yaitu Emulgator Alam yaitu Berasal dari tumbuh-tumbuhan misalnya : Gom Arab, Tragakan, Agar-agar, Pektin, Alginat, Karboksi Metil Selulosa Natrium, Metil Selulosa. Berasal dari hewan misalnya : Kuning Telur dan Adeps Lanae. Berasal dari tanah mineral misalnya : Magnesium, Aluminium, Silikat, Bentonit. Emulgator sintesis yaitu Anionik misalnya Trietanolamin, Natrium Lauril Sulfat. Kationik misalnya Benzetonium Klorida, Setil Piridivium. Nonionik misalnya Span, Tween, Gliseril Monostearat (Rusmin, R., 2021).

2.5 Peran Krim Terhadap Antioksidan

Pada penelitian Pogaga & Lebang (2020) menyatakan bahwa Sediaan krim ekstrak etanol daun murbei diuji terhadap DPPH sebagai radikal bebas dan diukur pada panjang gelombang 517 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa krim ekstrak etanol daun Murbei memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan nilai IC_{50} berturut-turut yaitu 1,7831 ppm, 0,8215 ppm dan 0,7668 ppm. Hal ini dapat dibandingkan dengan larutan Vitamin C yang mempunyai aktivitas antioksidan yang sangat kuat, yaitu 1.1113 ppm. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa krim dari ekstrak etanol daun Murbei memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat.

2.6 Monografi Bahan

a. Asam Stearat (Farmakope Indonesia III : 57-58)

- Pemerian : Zat padat, keras, mengkilat, menunjukkan susunan hablur putih dan kuning pucat mirip lemak lilin.

- Kelarutan : Praktis tidak larut dalam air, larut dalam 30 bagian etanol (95%)P,dalam 2 bagian kloroform P, dan dalam 3 bagian eter P.
- Khasiat : Zat tambahan emulsifying agent.
- Penyimpanan : Dalam wadah tertutup baik.
- Kadar : 1-20%

b. Setil Alkohol (Excipient 6th : 156)

- Pemerian : 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 temperature, serta tidak larut dalam air
- Stabilitas : Setil alkohol stabil dengan adanya asam, alkali, cahaya dan udara sehingga tidak terjadi tengik
- Kegunaan : Emolien dan pengemulsi
- Penyimpanan : Dalam wadah tertutup baik, di tempat yang sejuk dan kering

c. Gliserin (Farmakope Indonesia III : 271)

- Pemerian : Cairan seperti sirup, jernih tidak berwarna, tidak berbau, rasa manis, higroskopis
- Kelarutan : Dapat larut dalam air, etanol (95%) P, praktis tidak larut dalam kloroform P, dalam eter P dan dalam minyak lemak
- Fungsi : Zat tambahan

d. Trietanolamin (Farmakope Indonesia III : 612)

- Pemerian : Cairan kental, tidak berwarna hingga kuning pucat, bau lemah mirip amoniak, higroskopis
- Kelarutan : Mudah larut dalam air dan etanol (95%) P, larut dalam kloroform P
- Fungsi : Zat tambahan

e. Parafin cair (Farmakope Indonesia III : 474)

- Pemerian : Cairan kental, transparan, tidak berfluoresensi, tidak berwarna, hampir tidak berbau, hampir tidak mempunyai rasa
- Kelarutan : Praktis tidak larut dalam air dan dalam etanol (95%) P, larut dalam kloroform P dan dalam eter P

- Penyimpanan : Dalam wadah tertutup baik, terlindung dari cahaya

f. Metil Parben (Farmakope Indonesia III : 378)

- Pemerian : Serbuk hablur halus, putih, hampir tidak berbau, tidak mempunyai rasa, kemudian agak membakar diikuti rasa tebal
- Kelarutan : Lrut 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.

- Penyimpanan : Dalam wadah tertutup baik

g. Aquadest (Farmakope Indonesia III : 96)

- Pemerian : Cairan jernih, tidak berwarna, tidak berbau, tidak mempunyai rasa
- Penyimpanan : Dalam wadah tertutup baik
- Kegunaan : Sebagai pelarut

2.7 Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak larut dengan pelarut cair. Dengan diketahui senyawa aktif yang dikandung dalam simplisia akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat. (Fajarullah *et al.*, 2014). Metode ekstraksi dibagi menjadi dua yaitu metode ekstraksi dingin dan metode ekstraksi panas. Metode ekstraksi dingin memiliki kelebihan, yaitu dapat mengekstraksi senyawa tanpa merusak komponen kimia yang tidak tahan pemanasan. Metode ekstraksi dingin adalah maserasi dan perkolasi. Metode ekstraksi panas merupakan metode ekstraksi yang menggunakan pemanasan dalam mengekstraksi simplisia dengan pelarut yang lebih sedikit dan waktu yang digunakan lebih cepat. Metode ekstraksi panas adalah refluks dan sokletasi (Mukhtarini, 2014).

2.8 Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (Fajarullah *et al.*, 2014). Metode ini dilakukan dengan memasukkan serbuk

tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu ruang. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Kerugian utama dari metode maserasi ini adalah memakan banyak waktu, pelarut yang digunakan cukup banyak, dan besar kemungkinan beberapa senyawa hilang. Selain itu, beberapa senyawa mungkin saja sulit diekstraksi pada suhu ruang. Namun di sisi lain, metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa - senyawa yang bersifat termolabil (Mukhtarini, 2014).

2.9 Radikal Bebas

2.9.1 Definisi radikal bebas

Radikal bebas ialah suatu molekul yang memiliki sekelompok atom tidak berpasangan yang bersifat sangat reaktif. Memiliki karakteristik singkat serta reaktivitas yang tinggi. Radikal bebas berperan dalam proses biologis yang berasal dari proses biologis alami yang melibatkan prooksidan ROS dan *reaktive nitrogen species* (RNS). Dimana proses terbentuknya dari radikal bebas itu diawali dengan molekul yang tidak memiliki elektron berpasangan mencoba mencari elektron lain disekitarnya. Proses ini disebut oksidasi yang dimana kemudian akan membentuk molekul radikal bebas baru (Berawi, 2017).

2.9.2 Mekanisme radikal bebas

Antioksidan dalam tubuh memberikan perlindungan terhadap radikal, namun pada tahap awal kehidupan, radikal cukup umum terjadi dan menyebabkan sistem menjadi kurang efektif. Faktor prooksidan yang tidak seimbang dapat menyebabkan stres oksidatif, yang menyebabkan kerusakan sel pada lemak, karbohidrat, protein, dan struktur DNA yang tidak dapat diubah. Selama proses lipid peroksidase, atom hidrogen dari asam lemak tak jenuh dari *poli unsaturated fatty acid* diambil oleh enzim dan asam lemak menjadi penghalang oksidasi. Radikal bebas secara kovalen terikat pada karbohidrat komponen membran plasma, membentuk radikal berpusat karbon. Radikal berpusat karbon berinteraksi dengan molekul karbohidrat lain menyebabkan reaksi autokatalitik dan menyebabkan kerusakan membran. Alkilperoksida dan

radikal karbonil adalah dua contoh radikal bebas yang dihasilkan selama proses protein oksidasi sedangkan radikal karbonil dapat menyebabkan terurainya rantai polipeptida, meningkatkan proteolisis dan alkilperoksida dapat membuat fragmen protein (Andarina & Djauhari, 2017)

2.10 Antioksidan

2.10.1 Definisi antioksidan

Antioksidan adalah Suatu senyawa yang dapat menyerap atau menetralkan radikal bebas sehingga mampu mencegah penyakit-penyakit degeneratif seperti kardiovaskuler dan karsinogenesis. Senyawa antioksidan merupakan substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal, protein, dan lemak (Pratiwi, Yusran dan Islawati, 2023). Menurut penelitian Haerani, 2018 menyatakan bahwa antioksidan ialah zat yang dapat memberikan perlindungan endogen dan eksogen dengan menangkap radikal bebas. Antioksidan juga dapat menghambat oksidasi molekul lain.

2.10.2 Sumber Antioksidan

Antioksidan mempunyai 2 bagian yaitu antioksidan enzimatis dan antioksidan non enzimatis. Antioksidan enzimatis berasal dari dalam tubuh kita yang terdiri dari enzim seperti superoksida dismutase, glutathione peroxidase, peroxidase dan katalase. Antioksidan non enzimatis bersumber dari alam (antioksidan alami) yang didapat dari hasil sintesis reaksi kimia (antioksidan sintetik). Antioksidan alami dapat berupa tumbuh-tumbuhan atau buah-buahan serta bagian dari tumbuhan itu sendiri seperti daun, batang, akar, biji, hingga kulit biji yang mempunyai kandungan kimia yang berguna sebagai antioksidan seperti asam amino, asam askorbat, golongan flavonoid, tanin, dan lain-lain (Kayaputri dkk, 2014).

2.10.3 Mekanisme antioksidan

Mekanisme kerja antioksidan dapat digunakan untuk menangkul terjadinya radikal di dalam sel, ikatan hidrogen, ikatan elektron, dan oksidasi singlet. Antioksidan juga mempunyai kemampuan menghambat efek peroksidasi

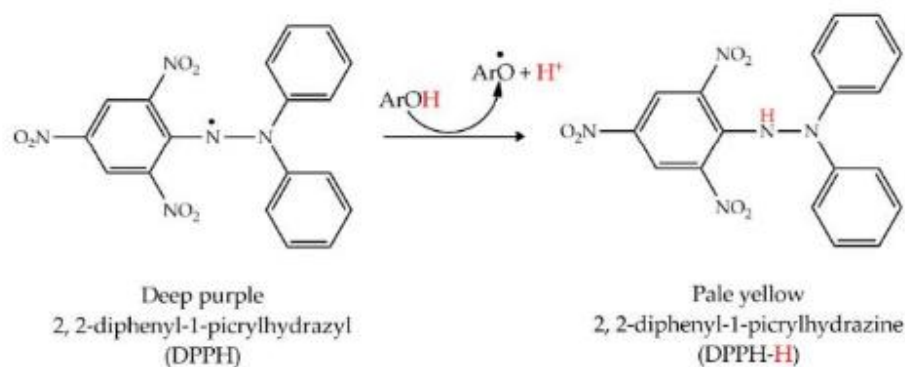
lipid melalui mekanisme respon stres oksidatif dari berbagai reaksi yang diprakarsai oleh radikal bebas, sehingga disebut antioksidan preventif atau pencegah (Natsir Djide, 2022).

2.11 Uji Aktivitas Antioksidan

2.11.1 DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

Prinsip kerja dari metode DPPH yaitu reaksi oksidasi-reduksi. DPPH merupakan suatu radikal bebas sintetik yang dapat larut dalam senyawa polar seperti etanol dan metanol. DPPH bereaksi dengan dua cara yaitu mekanisme donor atom hidrogen dan donor elektron, DPPH yang bersifat radikal akan mengambil atom hidrogen dari senyawa antioksidan untuk mendapatkan pasangan elektronnya. DPPH merupakan metode pengujian antioksidan yang paling mudah, cepat, murah dapat digunakan di laboratorium sederhana dan sensitif digunakan untuk menentukan aktivitas antioksidan (Aryanti, 2021).

Radikal DPPH adalah suatu senyawa organik yang mengandung nitrogen tidak stabil dengan absorbansi kuat pada λ_{\max} 517 nm dan berwarna ungu gelap. Setelah bereaksi dengan senyawa antioksidan, DPPH tersebut akan tereduksi dan warnanya akan berubah menjadi kuning (Karim, 2015).



Sumber : Kurniasari, (2022)

Gambar 2.6 Reaksi DPPH dengan antioksidan

2.12 Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis adalah salah satu teknis analisis spektroskopi dalam menggunakan sumber utama gelombang elektromagnetik dengan ultra violet (UV) untuk panjang gelombang (190-380 nm) dan sinar tampak (Visible) dengan panjang gelombang (380-780 nm). Sinar ultraviolet dan sinar tampak memiliki energi yang cukup tinggi untuk menarik elektron dari kulit terluar ke tingkat energi yang lebih tinggi. Alat ini biasanya digunakan untuk mengetahui molekul, ion anorganik dan kompleks didalam larutan. Spektrum UV-vis memiliki bentuk yang lebar dan hanya sedikit informasi tentang struktur yang didapat dari spektrum ini. Tetapi sangat berguna dalam pengukuran kuantitatif. Analisis ini digunakan dalam penentuan absorbansi dari larutan sampel yang akan diukur (Suhartati, 2017). Prinsip penentuan spektrofotometri UV-Vis yaitu dari hukum lambert-beer sebagai berikut:

$$A = -\log T = -\log I_t / I_0 = \epsilon \cdot b \cdot C$$

Keterangan :

A : absorbansi dari sampel yang akan diukur

T : transmitansi

I_0 : intensitas sinar masuk

I_t : intensitas sinar yang diteruskan

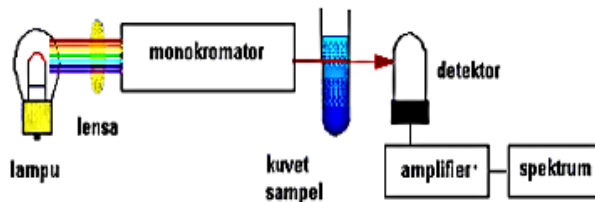
ϵ : koefisien ekstingsi

b : tebal kuvet yang digunakan

C : konsentrasi dari sampel

Dalam instrumentasi sumber cahaya biasanya digunakan yaitu lampu hidrogen/deuterium, untuk pengukuran ultra violet dan lampu tungsten untuk pengukuran pada cahaya tampak. Panjang gelombang dari sumber cahaya akan dibagi oleh pemisah panjang gelombang. Ada beberapa tipe spektrofotometri UV-Vis yaitu *single beam* dan *double beam*. Untuk yang *single beam* memiliki beberapa keuntungan yaitu sederhana, harganya yang murah, mengurangi biaya yang ada. *Single beam instrument* ini menghasilkan pengukuran sinar ultraviolet dan sinar

tampak. Panjang gelombang yang paling rendah 190-210nm dan yang paling tinggi 800-1000 nm (Suhartati, 2017).



Sumber : Suhartati, (2017)

Gambar 2.7 skema alat spektrofotometri UV-vis *single-beam*

Sedangkan *double beam* digunakan pada panjang gelombang 190-750nm. *double beam instrument* mempunyai dua sinar yaitu berbentuk V yang disebut pemecah sinar. Sinar pertama melewati larutan blanko dan sinar kedua secara serentak melewati sampel (Suhartati, 2017).



Sumber : Suhartati, (2017)

Gambar 2.8 skema alat spektrofotometri UV-vis *double-beam*

2.13 Tingkat Kekuatan

Konsentrasi dari larutan ekstrak dapat menyebabkan hingga 50% kematian populasi dan juga memberikan penurunan DPPH sebesar 50% pada konsentrasi sampel uji ($\mu\text{g/mL}$) dikenal sebagai nilai IC_{50} . Hal ini memungkinkan memperoleh persamaan regresi ($y = bx + a$), dimana koordinat (y) adalah nilai% reduksi antioksidan dan absis (x) adalah konsentrasi ekstrak ($\mu\text{g/mL}$). Dengan menggunakan persamaan ini, IC_{50} setiap sampel dicari dengan menyatakan nilai x sebagai IC_{50} dan nilai y sebagai 50.

Tabel 2.1 Kekuatan IC₅₀ Terhadap Aktivitas Antioksidan

No.	Kategori	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)
1	Sangat kuat	<50
2	Kuat	51-100
3	Sedang	101-150
4	Lemah	151-200

Sumber: Nasution dkk, (2015)



2.14 Kerangka Konseptual

2.14.1 Kerangka Teori

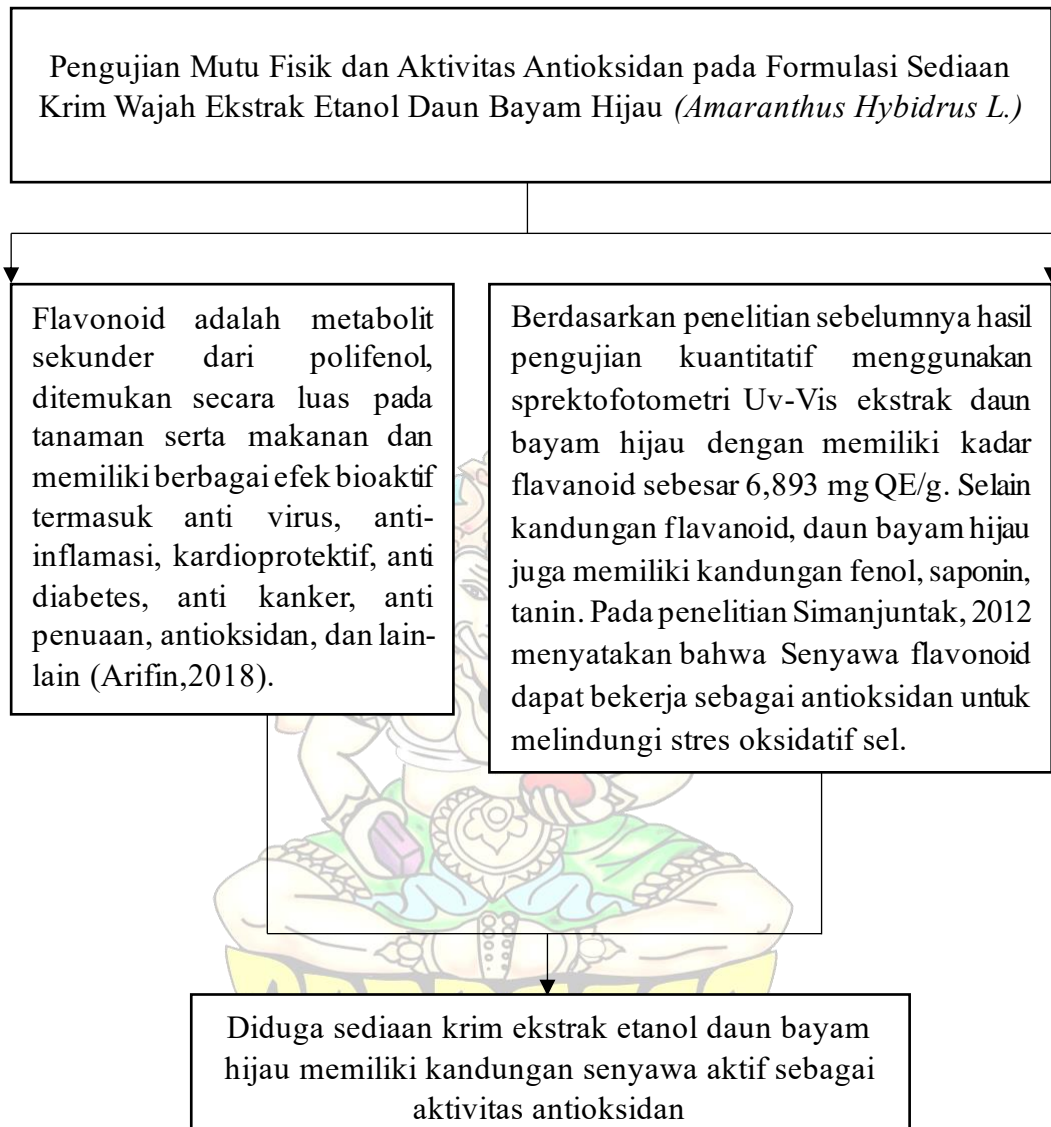
Perubahan iklim telah meningkat pesat dalam beberapa tahun terakhir. Dapat menimbulkan dampak negatif terhadap kesehatan manusia seperti permasalahan pada kulit yang diakibatkan adanya suhu yang cukup tinggi (Bharath *et al.*, 2009). Sehingga dapat menyebabkan beberapa masalah pada kulit, salah satunya kulit terbakar atau sunburn yang disebabkan oleh sinar UV (Krisnayanti *et al.*, 2021).

Sinar UV C adalah sinar dengan energi tertinggi, paling berbahaya diantara sinar ultraviolet lainnya. Pada penelitian Makiyah & Nofariyandi, 2014 menyatakan bahwa semakin lama paparan lampu ultraviolet C, maka semakin besar aktivitas proliferasi sel epidermis kulit mencit ditunjukkan dengan peningkatan indeks mitotik sel epidermis. peningkatan indeks mitotik ini yang menyebabkan kanker pada kulit yang diakibatkan terbentuknya ROS pada kulit (Makiyah & Nofariyandi, 2014).

Apabila ROS berlebihan dalam tubuh kita maka menyebabkan terjadinya stres oksidatif (Ikrima *et al.*, 2019). Pada penelitian Berawi & Surbakti, 2016 menyatakan bahwa Adanya ROS pada kulit akibat radiasi sinarnya UV-B meningkatkan ekspresi AP-1, meningkatnya AP-1 akan meningkatkan MMP1, yang kemudian MMP-1 akan memecah kolagen tipe-1. Rusaknya kolagen tipe-1 akan menurunkan produksi kolagen sehingga menimbulkan keriput pada kulit, disamping itu tingginya ROS juga menyebabkan naiknya kadar MDA.

Banyak penelitian yang tertuju kepada bahan antioksidan yang berasal dari tumbuh-tumbuhan. Salah satu tumbuhan yang dapat digunakan sebagai antioksidan yaitu tanaman bayam hijau (*Amaranthus Hybridrus L.*). Tanaman ini mengandung senyawa flavanoid, fenol, saponin dan tanin yang digunakan untuk mencegah kerusakan sel yang disebabkan oleh radikal bebas. Pembersihan langsung radikal bebas oleh flavonoid menghasilkan zat yang stabil Diketahui bahwa aktivitas dari gugus flavonoid tinggi, dan flavonoid dapat bekerja sebagai antioksidan untuk melindungi stres oksidatif sel.

2.14.2 Kerangka Konsep



2.15 Hipotesis

Diduga sediaan krim ekstrak etanol daun bayam hijau memiliki kandungan senyawa aktif sebagai aktivitas antioksidan