

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penuaan (*aging*) merupakan proses menurunnya fungsi dan kemampuan regenerasi organ tubuh, termasuk kulit. Penuaan biasanya dipicu dan diperparah oleh paparan radikal bebas yang diproduksi oleh berbagai faktor lingkungan seperti sinar ultraviolet (UV), polusi, asap rokok, dll. Radikal bebas terbentuk ketika molekul oksigen berikatan dengan molekul lain dan menghasilkan elektron berjumlah ganjil. Radikal bebas dengan elektron yang tidak berpasangan akan mencari dan menangkap elektron dari komponen vital dalam tubuh seperti DNA, sitoskeleton, protein sel dan membran sel, dimana hal ini akan menyebabkan kerusakan pada sel. Radikal bebas dapat dinetralkan dengan antioksidan, namun ketika hilangnya keseimbangan antara kadar antioksidan dan radikal bebas dalam tubuh maka akan menyebabkan suatu kondisi yang dinamakan stres oksidatif. Kondisi inilah yang berperan terhadap berbagai gangguan dalam tubuh salah satunya yaitu gangguan dermatologi seperti penuaan (*aging*) (Pai et al. 2014).

Antioksidan adalah molekul yang dapat menghambat proses oksidasi. Oksidasi adalah proses terjadinya kehilangan elektron atau peningkatan bilangan oksidasi pada suatu senyawa. Radikal bebas merupakan salah satu bentuk senyawa oksigen reaktif, yang secara umum diketahui sebagai senyawa yang memiliki elektron yang tidak berpasangan. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa tersebut dapat dihambat (Winarsi 2007; Winarti 2010). Antioksidan dapat diklasifikasikan menjadi antioksidan endogen dan eksogen. Antioksidan endogen adalah antioksidan yang dihasilkan atau disintesis di dalam tubuh seperti enzim–enzim yang bersifat antioksidan contohnya *glutathione peroxidase*, *glutathione reductase*, *superoxide dismutase* dan *catalase*. Ketika kadar antioksidan endogen tidak cukup untuk menangkal radikal bebas, saat itulah diperlukan antioksidan eksogen yang diperoleh dari luar tubuh (Werdhasari 2014).

Antioksidan eksogen dapat berupa antioksidan sintetis ataupun antioksidan alami. Antioksidan sintetis merupakan antioksidan yang tidak terdapat di alam namun disintesis secara kimiawi. Sedangkan antioksidan alami biasanya diperoleh dari bahan alam seperti buah dan sayuran, jenis antioksidan ini telah banyak menarik perhatian publik serta ilmuwan (Yadav et al 2016). Adanya kemungkinan timbul efek samping dari pemakaian antioksidan sintetis menyebabkan antioksidan alami menjadi salah satu alternatif yang sangat dibutuhkan (Sayuti & Yenrina 2015).

Salah satu bahan alam yang berkhasiat sebagai antioksidan adalah semangka merah (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum & Nakai). Penelitian yang dilakukan oleh Olabinri et al. pada tahun 2013 membuktikan bahwa ekstrak semangka merah memiliki aktivitas antioksidan atau penangkal radikal bebas, dimana pengujian ini dilakukan dengan metode DPPH dan sampel yang digunakan adalah ekstrak epikarpium, mesokarpium dan endokarpium semangka merah. Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak mesokarpium (kulit putih) semangka merah memiliki persentase aktivitas antioksidan paling tinggi dari ketiga sampel yang digunakan. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Johnson et al. pada tahun 2012, diperoleh kandungan flavonoid pada kulit putih semangka merah dengan kadar yang tidak jauh berbeda dari daging buahnya serta kandungan tannin pada kulit putih semangka merah dengan kadar paling tinggi dari daging buah dan bijinya.

Flavonoid berperan sebagai antioksidan dan melindungi tubuh terhadap *reactive oxygen species* (ROS). Flavonoid dioksidasi oleh radikal, menghasilkan radikal yang lebih stabil dan tidak reaktif. Dengan kata lain, flavonoid menstabilkan spesies oksigen reaktif melalui reaksi dengan senyawa reaktif radikal (Arifin & Ibrahim 2018). Tanin memiliki aktivitas sebagai penangkap radikal bebas karena tersusun dari senyawa polifenol. Tanin berfungsi sebagai antioksidan sekunder, karena tanin memiliki kemampuan mengkelat ion besi dan memperlambat oksidasi (Amarowicz 2007; Malangngi et al. 2012). Penelitian yang dilakukan oleh Sri Mariani, Nurdin Rahman & Supriadi (2018) menunjukkan nilai IC₅₀ dari sampel ekstrak etanol kulit putih semangka merah

sebesar 14,729 ppm. Hasil pengujian ini membuktikan bahwa ekstrak etanol kulit putih semangka merah memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat.

Metode pengujian yang sangat umum digunakan dalam menguji aktivitas antioksidan yaitu metode DPPH. Metode ini dikembangkan oleh Blois pada tahun 1958 dengan sudut pandang untuk menentukan aktivitas antioksidan menggunakan radikal bebas stabil *1,1-diphenil-2-picrylhydrazyl* (DPPH). Pengujian ini didasarkan pada pengukuran kapasitas penangkal dari antioksidan terhadap zat tersebut. Elektron ganjil dari atom nitrogen DPPH akan berkurang dengan menerima atom hidrogen dari zat antioksidan (Contreras-Guzman and Srong 1982; Kedare & Singh 2011). Metode ini banyak digunakan karena prosesnya yang cepat, sederhana, peka, memerlukan sampel dalam jumlah kecil, serta mudah diterapkan karena senyawa radikal DPPH yang digunakan bersifat relatif stabil dibanding metode lainnya (Rahmawati 2015). Pengukuran pada metode ini menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis, dimana aktivitas antioksidan akan ditunjukkan oleh hambatan serapan radikal DPPH pada panjang gelombang tertentu (Hasanah, Maharani & Munarsih 2017).

Berdasarkan aktivitas antioksidan yang dimiliki oleh kulit putih semangka merah (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum & Nakai), maka bahan ini berpotensi untuk dikembangkan menjadi suatu produk perawatan kulit dengan efek penangkal radikal bebas. Ada berbagai bentuk sediaan untuk produk perawatan kulit salah satunya adalah krim, dimana krim merupakan sediaan setengah padat berupa emulsi kental yang dimaksudkan untuk pemakaian luar serta mudah diserap kulit (Saptaning 2013).

Berdasarkan uraian diatas, peneliti memutuskan untuk meneliti bagaimana perbandingan aktivitas antioksidan dari krim ekstrak etanol kulit putih semangka merah (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum & Nakai) dan krim antioksidan yang beredar di pasaran dengan metode DPPH (*1,1-diphenil-2-picrylhydrazyl*).

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimanakah aktivitas antioksidan dari krim ekstrak etanol kulit putih semangka merah (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum & Nakai) dan krim

antioksidan yang beredar di pasaran jika diuji dengan metode DPPH (*1,1-diphenil-2-picrylhydrazyl*)?

2. Apakah terdapat perbedaan yang bermakna antara aktivitas antioksidan krim ekstrak etanol kulit putih semangka merah (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum & Nakai) dan krim antioksidan yang beredar di pasaran jika diuji dengan metode DPPH (*1,1-diphenil-2-picrylhydrazyl*)?

1.3 Tujuan

1. Untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari krim ekstrak etanol kulit putih semangka merah (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum & Nakai) dan krim antioksidan yang beredar di pasaran jika diuji dengan metode DPPH (*1,1-diphenil-2-picrylhydrazyl*).
2. Untuk mengetahui perbedaan aktivitas antioksidan antara krim ekstrak etanol kulit putih semangka merah (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum & Nakai) dan krim antioksidan yang beredar di pasaran jika diuji dengan metode DPPH (*1,1-diphenil-2-picrylhydrazyl*).

1.4 Manfaat

1.4.1 Manfaat teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat memberi informasi mengenai aktivitas antioksidan dari krim ekstrak etanol kulit putih semangka merah (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum & Nakai) dan perbandingan aktivitasnya dengan sediaan krim yang beredar di pasaran jika diuji dengan metode DPPH (*1,1-diphenil-2-picrylhydrazyl*).

1.4.2 Manfaat praktis

Penelitian ini diharapkan dapat menambah wawasan masyarakat mengenai pemanfaatan kulit putih semangka merah (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum & Nakai) sebagai antioksidan alami serta menjadi bahan pertimbangan penggunaan ekstrak etanol kulit putih semangka merah (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum & Nakai) dalam pembuatan sediaan krim antioksidan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Semangka Merah

Semangka merah secara botani berasal dari keluarga Cucurbitaceae (Edwards et al. 2003). Famili Cucurbitaceae termasuk yang tertinggi untuk jumlah dan persentase spesies yang digunakan sebagai makanan. Semangka merah berasal dari Gurun Kalahari Afrika tetapi saat ini dibudidayakan secara melimpah pada daerah tropis di dunia. Tanaman ini memiliki dampak ekonomi yang besar dengan 29,6 juta ton perkiraan produksi di seluruh dunia (Reetu dan Tomar 2017).



Gambar 2.1 Tanaman Semangka
(Sumber : Rahman 2013)

Semangka merah ditanam di tanah lempung berpasir yang kaya bahan organik dengan drainase dan kisaran pH yang baik yaitu 6,5-7,5 (Kumar et al. 2013). Semangka merah ditanam terutama di daerah sub-tropis dan panas-gersang. Kisaran suhu 24-27°C merupakan suhu optimal untuk pertumbuhan tanaman rambat. Malam yang dingin dan siang hari yang hangat ideal untuk penumpukan gula dalam buah-buahan. Benih berkecambah dengan baik saat suhu lebih dari 20°C. Kelembapan yang tinggi pada saat pertumbuhan vegetatif menyebabkan tanaman rentan terhadap berbagai penyakit jamur (Reetu dan Tomar 2017).

2.1.1 Klasifikasi tanaman semangka merah

Klasifikasi botani tanaman semangka merah adalah sebagai berikut:

Kingdom : *Plantae*
Subkingdom : *Tracheobionta*
Superdivisi : *Spermatophyta*

Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Subkelas	: <i>Rosidae</i>
Ordo	: <i>Cucurbitales</i>
Suku	: <i>Cucurbitaceae</i>
Marga	: <i>Citrullus</i>
Jenis	: <i>Citrullus lanatus</i> (Thunberg) Matsum & Nakai

(LIPI 2020)

2.1.2 Morfologi tanaman semangka merah

Semangka merah merupakan tanaman rambat dengan batang yang panjang (hingga 10 m) berbaring di tanah dengan sulur keriting. Daun berukuran 5-20 kali dari 3-19 cm, lobed menyirip yang kasar dan berbulu. Tangkai daun memiliki panjang 2-19 cm. Bunga jantan pada tangkai bunga sepanjang 1,2-4,5 cm. Bunga dengan panjang 1-2,5 cm, hijau pucat. Bunga monoecious dengan tangkai yang panjangnya hingga 4,5 cm, memiliki 5 kelopak, hijau pucat. Buah tanaman liar diameternya berukuran 15-20 cm, hampir bulat, kehijauan, berbintik-bintik lebih hijau gelap. Buah dari tanaman budidaya berukuran hingga 30x60 cm, bulat atau elipsoid, hijau atau kekuningan, berwarna merata atau bintik - bintik atau belang. Buah semangka merah memiliki kulit luar yang tebal dan halus. Albedo atau lapisan tengah (mesokarp) merupakan bagian kulit buah yang paling tebal dan berwarna putih (Dane F dan Jiarong Liu 2007; Kalie 2008; Wehner et al. 2001).

2.1.3 Kandungan metabolit semangka merah

Tabel 2.1 Kandungan Metabolit Semangka Merah

	Daging Buah	Biji	Kulit Putih	Kulit Luar
Saponin	+++	++	+++	++
Alkaloid	+	+	++	+++
Tannin	+	+	++	-
Flavonoid	+++	++	+++	+

(Sumber : Johnson et al. 2012; Njoya et al. 2019)

Keterangan:

(-) = Tidak mengandung

(+) = Rendah

(++) = Sedang

(+++)= Tinggi

2.1.4 Manfaat semangka merah

Kulit putih semangka merah adalah sumber Vitamin A & C yang sangat baik serta merupakan antioksidan alami yang kuat. Mengonsumsi makanan yang kaya Vitamin C membantu tubuh mengembangkan resistensi terhadap agen infeksius dan menangkal radikal bebas yang berbahaya. Vitamin A membantu menjaga kulit dan rambut tetap lembab dan juga mendukung pertumbuhan sel kolagen yang sehat dan sel elastin. Vitamin C juga bermanfaat dalam membantu pertumbuhan kolagen yang sehat (Reetu and Tomar 2017).

2.2 Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu cara untuk memperoleh suatu senyawa yang terdapat dalam jaringan dan sel tanaman. Produk ekstraksi yang dihasilkan dari proses ekstraksi jaringan tanaman dapat berupa cairan yang tidak murni, semisolid atau serbuk yang diperuntukkan bagi pemakaian luar ataupun oral. Tujuan dari suatu proses ekstraksi adalah untuk memperoleh suatu bahan aktif yang tidak diketahui, memperoleh suatu bahan aktif yang sudah diketahui, memperoleh sekelompok senyawa yang struktur sejenis, memperoleh semua metabolit sekunder dari suatu bagian tanaman dengan spesies tertentu, mengidentifikasi semua metabolit sekunder yang terdapat dalam suatu makhluk hidup sebagai penanda kimia atau kajian metabolisme. Teknik ekstraksi yang ideal adalah teknik ekstraksi yang mampu mengekstraksi bahan aktif yang diinginkan sebanyak mungkin, cepat, mudah dilakukan, murah, ramah lingkungan dan hasil yang diperoleh selalu konsisten jika dilakukan berulang-ulang (Endarini 2016).

Tabel 2.2 Metode Ekstraksi

Metode	Prinsip Kerja	Kelebihan	Kekurangan
Maserasi	Merupakan metode ekstraksi yang dilakukan dengan merendam bagian tanaman dengan pelarut dalam bejana tertutup, selama perendaman dilakukan pengadukan berkali-kali agar bagian tanaman larut dalam cairan pelarut.	Dapat menghindari rusaknya senyawa yang bersifat termolabil, sesuai untuk ekstraksi skala kecil maupun skala industri.	Memakan banyak waktu, penggunaan pelarut yang cukup banyak serta besar kemungkinan hilangnya senyawa.
Perkolasi	Cara penyarian dengan mengalirkan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi, cairan penyari akan melarutkan zat aktif dalam sel-sel simplisia yang dilalui sampel dalam keadaan jenuh.	Sampel senantiasa dialiri oleh pelarut baru	Kesulitan pelarut untuk menjangkau seluruh area apabila sampel dalam percolator tidak homogen
Soxhletasi	Merupakan penyarian simplisia secara berkesinambungan, cairan penyari dipanaskan sehingga menguap lalu terkondensasi menjadi molekul-molekul air dan turun menyari simplisia dalam klongsong.	Tidak membutuhkan banyak pelarut dan tidak memakan banyak waktu	Dapat mendegradasi senyawa yang bersifat termolabil
Refluks	Cara ini pada dasarnya adalah ekstraksi berkesinambungan. Sampel dimasukkan bersama pelarut ke dalam labu yang dihubungkan dengan kondensor. Pelarut dipanaskan hingga mencapai titik didih. Uap terkondensasi dan kembali ke labu.	Tidak membutuhkan banyak pelarut dan tidak memakan banyak waktu	Dapat mendegradasi senyawa yang bersifat termolabil

Metode	Prinsip Kerja	Kelebihan	Kekurangan
Destilasi Uap	Biasanya digunakan untuk mengekstraksi minyak esensial. Memiliki proses yang sama dengan refluks, hanya saja selama pemanasan, Uap terkondensasi dan destilat ditampung dalam wadah yang terhubung dengan kondensor	Uap terkondensasi dan destilat tidak saling campur	Dapat mendegradasi senyawa yang bersifat termolabil
Infusa	Dilakukan dengan maserasi bagian tanaman dengan air dingin atau air mendidih dalam jangka waktu yang pendek (15 menit)	Peralatan sederhana, mudah dipakai, dan biaya murah.	Dapat mendegradasi senyawa yang bersifat termolabil, Hasil tidak dapat digunakan dalam jangka waktu yang lama
Dekokta	Dilakukan dengan merebus bagian tanaman dalam air mendidih dengan volume dan selama waktu tertentu (30 menit) kemudian didinginkan dan ditekan atau disaring untuk memisahkan cairan ekstrak dari ampasnya	Peralatan sederhana, mudah dipakai, dan biaya murah.	Dapat mendegradasi senyawa yang bersifat termolabil, volume cairan ekstrak yang diperoleh biasanya hanya seperempat dari volume semula.

(Sumber : Ditjen POM 2014; Endarini 2016; Mukhriani 2014)

2.3 Metabolit Sekunder

Metabolit sekunder merupakan sebagian kecil karbon, nitrogen dan energi yang digunakan untuk mensintesis molekul organik yang tidak berperan langsung dalam pertumbuhan dan perkembangan suatu organisme. Pada tumbuhan, jika suatu metabolit sekunder tidak diproduksi dalam jangka pendek, hal tersebut tidak

menyebabkan kematian dikarenakan fungsinya yang sangat spesifik dan tidak terlalu penting (Croteau *et al.* 2015; Gutzeit & Ludwig-Muller 2014).

Seiring berkembangnya ilmu pengetahuan dan teknologi, metabolit sekunder banyak dimanfaatkan manusia pada berbagai bidang kehidupan seperti kesehatan, pertanian, pangan, dan lain-lain (Anggraito *et al.* 2018). Beberapa contoh metabolit sekunder yang banyak dijumpai pada tumbuhan ialah sebagai berikut.

2.3.1 Terpenoid

Terpenoid merupakan kelas metabolit sekunder terbesar yang tidak larut air. Terpenoid berperan penting dalam pertahanan tumbuhan karena merupakan racun dan pencegah makan terhadap sejumlah serangga dan mamalia herbivora (Anggraito *et al.* 2018; Croteau *et al.* 2012). Adanya terpenoid ditandai dengan terbentuknya cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan larutan residu penguapan ekstrak tanaman setelah ditambah pereaksi (Sunarmi 2016)

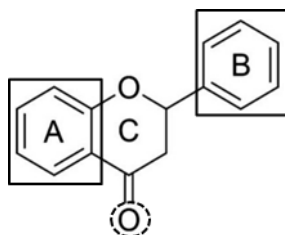
2.3.2 Steroid

Steroid merupakan terpenoid lipid yang memiliki empat cincin karbon yang menyatu. Struktur senyawa steroid sangat beragam dikarenakan adanya gugus fungsi teroksidasi yang terikat pada cincin dan terjadinya oksidasi cincin karbon. Bagi tubuh manusia, steroid berperan dalam menjaga keseimbangan garam, mengendalikan metabolisme serta meningkatkan fungsi organ seksual (Bhawani *et al.* 2011; Samejo *et al.* 2013). Adanya steroid ditandai dengan terbentuknya larutan berwarna biru/hijau setelah sampel ditambahkan pereaksi (Sunarmi 2016)

2.3.3 Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang larut dalam air, mempunyai 15 atom karbon yang tersusun dalam konfigurasi C₆-C₃-C₆, artinya kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C₆ (cincin benzena tersubstitusi) yang disambungkan oleh rantai alifatik tiga karbon (Arifin & Ibrahim 2018). Pembentukan endapan kuning setelah sampel ditambahkan pereaksi timbal asetat 10% menunjukkan bahwa sampel mengandung flavonoid (Jha *et al.* 2018).

Flavonoid dioksidasi oleh radikal, menghasilkan radikal yang lebih stabil dan tidak reaktif. Dengan kata lain, flavonoid menstabilkan spesies oksigen reaktif melalui reaksi dengan senyawa reaktif radikal (Arifin & Ibrahim 2018). Aktivitas antioksidan pada flavonoid terutama dipengaruhi substitusi gugus hidroksi pada posisi orto dan para terhadap gugus OH dan OR (Pratiwi 2006).



Gambar 2.2 Struktur Kimia Senyawa Flavonoid
(Sumber: Cefali et al 2016)

Keterangan:

(○) : Gugus auksokrom

□ : Gugus kromofor

2.3.4 Alkaloid

Alkaloid merupakan suatu kelompok besar yang terdiri dari >15.000 metabolit sekunder yang mengandung nitrogen. Sebagian besar alkaloid dipercaya memiliki efek toksisitas sebagai bentuk pertahanan terhadap herbivora. Alkaloid biasanya disintesis dari salah satu asam amino tertentu seperti lisin, tirosin atau triptofan (Anggraito *et al.* 2018; Simbala 2009). Adanya alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan jingga setelah sampel ditambahkan pereaksi dragendoff atau terbentuknya endapan menggumpal berwarna putih atau kuning setelah sampel ditambah pereaksi mayer (Depkes RI 1989; Susanti et al. 2004).

2.3.5 Tannin

Tannin merupakan metabolit sekunder yang mengandung gugus fenol (hidroksil fungsional pada cincin aromatik), oleh karena itu tannin diklasifikasikan sebagai senyawa fenolik yang berperan terhadap respon pertahanan pada tumbuhan (Anggraito et al. 2018). Adanya tannin dibuktikan dengan terbentuknya warna hijau hingga biru kehitaman setelah sampel ditambahkan pereaksi FeCl_3 5% (Hanani 2015). Tannin memiliki aktivitas sebagai

secara tradisional telah digunakan untuk sediaan setengah padat yang mempunyai konsistensi relatif cair diformulasi sebagai emulsi air dalam minyak (a/m) atau minyak dalam air (m/a). Sekarang ini batas tersebut lebih diarahkan untuk produk yang terdiri dari emulsi minyak dalam air (m/a) atau disperse mikrokristal asam – asam lemak atau alkohol berantai panjang dalam air, yang dapat dicuci dengan air dan lebih ditujukan untuk penggunaan kosmetika dan estetika (Ditjen POM 2014).

Stabilitas krim akan rusak jika sistem campurannya terganggu oleh perubahan suhu dan perubahan komposisi yaitu adanya penambahan salah satu fase secara berlebihan atau zat pengemulsinya tidak tercampurkan satu sama lain. Bahan pengemulsi krim harus disesuaikan dengan jenis dan sifat krim yang dikehendaki serta diperlukan penambahan bahan pengawet untuk menjaga stabilitas krim. Krim disimpan dalam wadah tertutup baik atau tube di tempat sejuk dengan penandaan pada etiket tertera “Obat Luar” (Saptaning 2013; Syamsuni 2005).

2.4.1 Metode pembuatan krim

Pembuatan sediaan krim meliputi proses peleburan dan emulsifikasi. Komponen yang tidak bercampur dengan air (Hidrofobik) dicairkan bersama-sama didalam penangas air pada suhu 70-75°C (Fase minyak). Bahan yang larut dalam air (Hidrofilik) dan tahan panas, dipanaskan pada suhu 70-75°C (Fase air). Setelah mencapai suhu 70-75°C, fase air ditambahkan kedalam fase minyak secara perlahan-lahan dan diaduk secara konstan, temperatur dipertahankan selama 5-10 menit untuk mencegah kristalisasi dari lilin atau lemak. Campuran perlahan-lahan didinginkan dengan pengadukan yang terus-menerus sampai mengental membentuk massa krim (Widodo 2013).

2.4.2 Monografi bahan

2.4.2.1 Gliserin

Gliserin adalah cairan bening, tidak berwarna, tidak berbau, kental, higroskopis, memiliki rasa manis, kurang lebih 0,6 kali lebih manis dari sukrosa. Titik leleh 17,8°C. Larut dalam etanol (95%), etil asetat, methanol dan air; agak

sukar larut dalam aseton; sukar larut dalam eter; praktis tidak larut dalam benzene, kloroform dan minyak. Dalam formulasi sediaan topikal dan kosmetik, gliserin digunakan sebagai humektan dan emolien. Gliserin digunakan sebagai pelarut atau cosolvent dalam krim dan emulsi. Penggunaan gliserin sebagai emollient atau humektan yaitu $\leq 30\%$ (Rowe et al. 2009).

2.4.2.2 Propilenglikol

Propilenglikol merupakan cairan bening, tidak berwarna, kental, praktis tidak berbau, dengan rasa manis agak tajam yang menyerupai gliserin. Titik didih 188°C , titik leleh sampai 59°C , indeks bias 1.4324. Dapat bercampur dengan aseton, kloroform, etanol (95%), gliserin, dan air; larut pada 1 dalam 6 bagian eter; tidak tercampur dengan minyak mineral ringan atau minyak tetap, tetapi akan melarutkan sebagian minyak esensial. Propilenglikol telah banyak digunakan sebagai pelarut, ekstrak, dan pengawet dalam berbagai formulasi farmasi parenteral dan nonparenteral. Propilenglikol juga digunakan dalam kosmetik sebagai pembawa pengemulsi. Pada sediaan topikal digunakan sebagai humektan pada konsentrasi 15% (Rowe et al. 2009).

2.4.2.3 Metil paraben

Metil paraben merupakan kristal tak berwarna atau kristal putih bubuk, tidak berbau atau hampir tidak berbau dan memiliki sedikit rasa terbakar. Titik leleh $125\text{-}128^{\circ}\text{C}$. Mudah larut dalam etanol, etanol 95%, etanol 50%, eter dan propilenglikol; agak sukar larut dalam gliserin dan air hangat; praktis tidak larut dalam minyak mineral. Metilparaben banyak digunakan sebagai pengawet/antimikroba di kosmetik, produk makanan, dan formulasi farmasi. Dapat digunakan secara tunggal atau dikombinasikan dengan paraben yang lain atau dengan agen antimikroba lainnya. Penggunaannya sebagai antimikroba dalam sediaan topikal yaitu pada konsentrasi 0,02-0,3% (Rowe et al. 2009).

2.4.2.4 Propil paraben

Propil paraben merupakan bubuk kristal putih, tidak berbau, dan tidak berasa. Titik didih $29,5^{\circ}\text{C}$. Mudah larut dalam aseton, etanol 95%, etanol 50%,

eter, dan propilenglikol; sukar larut dalam gliserin, air hangat dan propilenglikol 50%; sangat sukar larut dalam minyak mineral dan air. Propil paraben banyak digunakan sebagai pengawet antimikroba di kosmetik, produk makanan, dan sediaan farmasi. Dapat digunakan secara tunggal, dalam kombinasi dengan ester paraben lainnya, atau dengan agen antimikroba lainnya. Penggunaannya sebagai antimikroba dalam sediaan topikal yaitu pada konsentrasi 0,01-0,6% (Rowe et al. 2009).

2.4.2.5 Asam Stearat

Asam stearat berwarna keras, putih atau agak kuning mengkilat, kristal padat atau bubuk putih atau putih kekuningan. Memiliki sedikit bau dan rasa seperti lemak. Titik didih 38,3°C; Titik leleh 69 - 70°C. Kandungan kelembapan Hampir tidak mengandung air, Indeks bias 1.43 pada 80°C, Koefisien partisi log (minyak: air) = 8.2. Mudah larut dalam benzena, karbon tetraklorida, kloroform, dan eter; larut dalam etanol (95%), heksana, dan propilen glikol; praktis tidak larut dalam air. Dalam formulasi sediaan topikal, asam stearat digunakan sebagai pengemulsi dan agen pelarut. Ketika dinetralkan sebagian dengan alkali atau trietanolamina, asam stearat digunakan dalam pembuatan krim. Asam stearat yang dinetralkan sebagian membentuk basis krim bila dicampur dengan 5–15 kali beratnya sendiri dengan cairan pelarut, penampilan dan plastisitas krim ditentukan oleh proporsi alkali yang digunakan. Penggunaan asam stearat dalam pembuatan salep dan krim yaitu sekitar 1-20% (Rowe et al. 2009).

2.4.2.6 Gliseril Monostearat

Gliseril monostearat berwarna putih hingga krem; seperti lilin padat dalam bentuk manik-manik, serpihan, atau bubuk; sedikit berbau dan rasa berlemak. Titik leleh 55-60°C, Larut dalam etanol panas, eter, kloroform, aseton panas, minyak mineral, dan minyak tetap; praktis tidak larut dalam air, tapi mungkin didispersikan dalam air dengan bantuan sedikit sabun atau surfaktan lainnya. Gliseril monostearat banyak digunakan sebagai pengemulsi non ionik, stabilisator, pengemulsi, dan pemlastis dalam berbagai produk makanan, farmasi, dan kosmetik. Bahan ini bertindak sebagai penstabil efektif, yaitu sebagai pelarut

untuk senyawa polar dan nonpolar yang dapat membentuk *water-in-oil* atau *oil-in-water* emulsi (Rowe et al. 2009).

2.4.2.7 TEA

Trietanolamina adalah cairan kental berwarna bening, tidak berwarna sampai kuning pucat, memiliki sedikit bau amoniak. Titik leleh 20-21°C. Larut dalam aseton, benzena, karbon tetraklorida, methanol dan air; agak sukar larut dalam etil eter. Trietanolamina banyak digunakan dalam sediaan topikal, terutama dalam pembentukan emulsi. Jika dicampur dalam proporsi ekuimolar dengan asam lemak, seperti asam stearat atau asam oleat, trietanolamina membentuk sabun anionik dengan pH sekitar 8, yang dapat digunakan sebagai agen pengemulsi untuk menghasilkan emulsi minyak dalam air yang berbutir halus dan stabil. Konsentrasi yang biasanya digunakan untuk emulsifikasi adalah 2-4% v/v trietanolamina dan 2-5 kali lipat dari asam lemak (Rowe dkk.2009).

2.4.2.8 Aquadest

Aquadest adalah cairan bening, tidak berwarna, tidak berbau dan tidak berasa. Titik didih 100°C, indeks bias 1,3330. Dapat bercampur dengan sebagian besar pelarut polar. Air banyak digunakan sebagai bahan baku, komposisi dan pelarut dalam pengolahan, formulasi dan pembuatan produk farmasi, bahan aktif farmasi, zat antara dan reagen analitik (Rowe dkk.2009).

2.5 Radikal Bebas

Radikal bebas adalah suatu molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan, hal ini menyebabkan radikal bebas disebut sebagai salah satu bentuk senyawa oksigen reaktif. Radikal bebas adalah atom, molekul atau senyawa yang memiliki elektron yang tidak berpasangan, oleh karena itu molekul ini tidak stabil dan bersifat sangat reaktif dimana elektron yang tidak berpasangan akan berusaha untuk mencari pasangan sehingga mudah bereaksi dengan zat lain. Dalam jumlah tertentu radikal bebas diperlukan untuk kesehatan, akan tetapi radikal bebas bersifat merusak dan sangat berbahaya. Fungsi radikal bebas dalam tubuh adalah untuk melawan radang, membunuh bakteri dan mengatur tonus otot

polos dalam organ dan pembuluh darah. Dalam sistem biologis tubuh terdapat banyak jenis radikal bebas dimana mayoritasnya adalah radikal bebas turunan oksigen seperti ROS (*Reactive Oxygen Species*) dan RNS (*Reactive Nitrogen Species*) (Giriwijoyo 2004; Parwata 2016; Winarti 2010).

Reactive Oxygen Species sebagian besar merupakan hasil metabolisme sel normal di dalam tubuh (ROS Endogen) dan sebagian kecil merupakan paparan dari zat-zat lain atau radikal-radikal dari luar tubuh (ROS eksogen) yang dapat menyebabkan terjadinya inflamasi atau peradangan. ROS endogen merupakan respon fisiologis dari hasil metabolisme sel-sel normal tubuh seperti misalnya metabolisme karbohidrat dan protein. Paparan dari luar tubuh merupakan oksigen reaktif yang berasal dari polutan lingkungan, radiasi, infeksi bakteri, jamur dan virus. Radikal bebas yang paling banyak terbentuk di dalam tubuh adalah superoksida. Superoksida ini akan diubah menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) yang dalam tahap propagasi akan diubah menjadi radikal hidroksil ($*OH$) yang menyebabkan terjadinya peroksidasi lemak pada membran sel sehingga sel mengalami kerusakan (Parwata 2016).

Pembentukan radikal bebas terjadi secara terus menerus di dalam tubuh. Hal ini terjadi melalui proses oksidasi dan pembakaran sel yang berlangsung pada waktu bernafas, metabolisme sel, olahraga yang berlebihan, peradangan, dan terpapar polusi (asap kendaraan, asap rokok, makanan, logam berat, dan radiasi matahari). Radikal bebas akan bereaksi dengan molekul sel di sekitarnya untuk memperoleh pasangan elektron untuk menjadi lebih stabil. Sebaliknya, molekul sel tubuh yang diambil elektronnya yang berubah menjadi radikal bebas. Proses ini jika tidak dihentikan akan menimbulkan stress oksidatif yang menyebabkan suatu peradangan, kerusakan DNA atau sel dan berbagai penyakit seperti kanker, jantung, katarak, penuaan dini, serta penyakit degeneratif lainnya (Parwata 2016).

2.6 Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa pemberi elektron yang dapat mendonorkan elektronnya kepada molekul radikal bebas sehingga aktivitas radikal bebas tersebut dapat dihambat. Secara biologis, pengertian antioksidan adalah senyawa

yang dapat menangkal atau meredam dampak negatif oksidan. 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 sehingga dapat mencegah penyakit-penyakit degeneratif seperti kardiovaskuler, karsinogenesis, dan penyakit lainnya (Murray 2009; Winarti 2010).

2.6.1 Penggolongan antioksidan

Berdasarkan mekanisme kerjanya di dalam tubuh manusia, antioksidan dibedakan menjadi 3 golongan yaitu (Parwata 2016) :

1. Antioksidan Primer, yaitu antioksidan yang berfungsi mencegah pembentukan radikal bebas selanjutnya (propagasi), antioksidan tersebut adalah transferin, feritin, albumin.
2. Antioksidan Sekunder, yaitu antioksidan yang berfungsi menangkap radikal bebas dan menghentikan pembentukan radikal bebas, antioksidan tersebut adalah *Superoxide Dismutase* (SOD), *Glutathione Peroxidase* (GPx) dan *Catalase*.
3. Antioksidan Tersier atau *repair enzyme*, yaitu antioksidan yang berfungsi memperbaiki jaringan tubuh yang rusak oleh radikal bebas, antioksidan tersebut adalah Metionin sulfosida reduktase, Metionin sulfosida reduktase, *DNA repair enzymes*, *protease*, *transferase* dan *lipase*.

Berdasarkan sumbernya, antioksidan dibedakan menjadi antioksidan endogen dan eksogen, dimana antioksidan eksogen terbagi lagi menjadi antioksidan alami dan sintetis (Parwata 2016) :

1. Antioksidan Endogen, yaitu antioksidan yang sudah diproduksi di dalam tubuh manusia yang dikenal dengan enzim antioksidan (enzim Superoksida Dismutase (SOD), Glutathion Peroksidase (GPx), dan Katalase (CAT).
2. Antioksidan Eksogen, yaitu antioksidan yang tidak diproduksi di dalam tubuh manusia melainkan diperoleh dari luar tubuh seperti pada makanan, minuman atau sediaan topikal yang mengandung antioksidan.

- a. Antioksidan Sintetis, merupakan antioksidan yang tidak terdapat di alam, melainkan disintesis secara kimiawi. Antioksidan sintetis yang banyak digunakan pada produk pangan seperti Butil Hidroksi Anisol (BHA), Butil Hidroksi Toluen (BHT), propil galat dan Tert-Butil Hidroksi Quinon (TBHQ) (Parwata 2016; Shahidi et al. 1992).
- b. Antioksidan alami, merupakan antioksidan yang berasal dari alam, dimana banyak terkandung pada bagian-bagian tanaman seperti kayu, kulit kayu, akar, daun, buah, bunga, biji dan serbuk sari seperti vitamin A, vitamin C, vitamin E dan senyawa fenolik (flavonoid & tanin) (Parwata 2016).

2.6.2 Metode uji antioksidan

Tabel 2.3 Metode Pengujian Antioksidan

Golongan	Metode	Kelebihan	Kekurangan
<i>Hydrogen Atom Transfer methods</i> (HAT)	<i>Total radical trapping antioxidant parameter</i> (TRAP)	Dapat mengukur antioksidan nonenzimatik seperti glutathione, asam askorbat.	Banyak titik akhir berbeda yang telah digunakan, jadi perbandingan antar laboratorium sulit.
	<i>Oxygen radical absorbing capacity</i> (ORAC) assay	Telah diterapkan secara luas di bidang akademis dan di industri makanan sebagai metode pilihan untuk mengukur kapasitas antioksidan	ORAC terbatas pada pengukuran rantai hidrofilik dan mengabaikan antioksidan lipofilik.
<i>Electron Transfer methods</i> (ET)	<i>Ferric-reducing antioxidant power</i> (FRAP) assay	Sederhana, cepat, murah, dan tidak ada peralatan khusus yang dibutuhkan.	FRAP tidak dapat mendeteksi spesies yang bertindak secara radikal quenching (transfer H).

Golongan	Metode	Kelebihan	Kekurangan
	DPPH <i>free radical scavenging assay</i>	Sederhana, cepat dan tidak membutuhkan banyak reagen seperti halnya metode lain.	Hanya dapat digunakan untuk mengukur antioksidan yang larut dalam pelarut organik
Other Assays	Cellular antioxidant activity (CAA) assay	Pengukur kekuatan antioksidan keseluruhan yang lebih akurat	Banyak memakan waktu dan biayanya mahal
	<i>Enhanced chemiluminescence (ECL)</i>	Metode ini dapat mengukur kapasitas antioksidan yang sensitif terhadap radikal penangkap antioksidan yang mengurangi keluaran cahaya.	Metode ini rumit dan memakan waktu karena larutan reagen pensinyalan segar harus siap. Terakhir, instrumentasi yang mahal

(Sumber : Badarinath et al. 2010)

2.6.3 Metode DPPH (*1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil*)

Salah satu metode yang paling umum digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan adalah dengan menggunakan radikal bebas *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil* (DPPH). Pengukuran antioksidan dengan metode DPPH adalah metode pengukuran antioksidan yang sederhana, cepat dan tidak membutuhkan banyak reagen seperti halnya metode lain. Hasil pengukuran dengan metode DPPH menunjukkan kemampuan antioksidan sampel secara umum, tidak berdasarkan pada jenis radikal yang dihambat (Juniarti et al. 2009). Pada metode lain selain DPPH membutuhkan reagen kimia yang cukup banyak, waktu analisis yang lama, biaya yang mahal dan tidak selalu dapat diaplikasikan pada semua sampel (Badarinath et al. 2010).

DPPH berfungsi sebagai senyawa radikal bebas stabil yang ditetapkan secara spektrofotometri melalui persen peredaman absorbansi. DPPH memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 517 nm dengan warna violet gelap. Penangkap radikal bebas menyebabkan elektron menjadi berpasangan yang kemudian menyebabkan penghilangan warna yang sebanding dengan jumlah elektron yang diambil (Parwata 2016; Sunarmi 2005). Penggunaan metode spektroskopi ini sudah divalidasi dengan pengukuran beberapa antiradikal bebas yang umum seperti tokoferol, vitamin C, pinocembrin, dan skualen yang memberikan hasil yang signifikan dengan uji antiradikal bebas yang lain. Keaktifan dari golongan senyawa-senyawa yang berfungsi sebagai antiradikal bebas ditentukan adanya gugus fungsi –OH (hidroksil) bebas dan ikatan rangkap karbon-karbon, seperti flavon, flavanon, skualen, tokoferol, β -karoten, vitamin C, dan lain-lain (Parwata 2016).

Setelah bereaksi dengan senyawa antioksidan, DPPH tersebut akan tereduksi dan warnanya akan berubah menjadi kuning. Perubahan tersebut dapat diukur dengan spektrofotometer, dan diplotkan terhadap konsentrasi penurunan intensitas warna yang terjadi disebabkan oleh berkurangnya ikatan rangkap terkonjugasi pada DPPH. Hal ini dapat terjadi apabila adanya penangkapan satu elektron oleh zat antioksidan, menyebabkan tidak adanya kesempatan elektron tersebut untuk beresonansi. Peredaman warna DPPH disebabkan oleh adanya senyawa yang bisa memberikan radikal hidrogen kepada radikal DPPH (Windono et al. 2001).

Pelarut organik yang digunakan dalam ekstraksi adalah heksana, diklorometana, etil asetat, etanol dan metanol, secara terpisah. Absorbansi larutan diukur dengan menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 517 nm. Aktifitas antioksidan dinyatakan dalam % penghambatan. Besarnya daya antioksidan dihitung dengan rumus (Sayuti & Yenrina 2015) :

$$\% \text{penghambatan} = \left(1 - \frac{\text{Absorban sampel}}{\text{Absorban blanko}} \right) \times 100\% \dots\dots \text{Persamaan (2.1)}$$

Jika % penghambatan menunjukkan nilai 0% berarti sampel yang diuji tidak mempunyai aktivitas antiradikal bebas, namun apabila % penghambatan

menunjukkan nilai 100% berarti peredaman total dan pengujian perlu dilanjutkan dengan pengenceran sampel untuk mengetahui batas konsentrasi aktivitasnya. Suatu bahan dapat dikatakan aktif sebagai antiradikal bebas bila persentase peredamannya lebih dari atau sama dengan 50% (Parwata 2016).

Setelah menentukan nilai % penghambatan, dilanjutkan dengan menentukan nilai *Inhibition Concentration* 50% (IC_{50}) yaitu konsentrasi sampel yang dapat meredam radikal bebas DPPH sebanyak 50%. Analisis IC_{50} dihitung berdasarkan persamaan regresi linier yang didapatkan dengan memplot konsentrasi larutan uji dan persen peredaman DPPH sebagai parameter aktivitas antioksidan dengan menggunakan persamaan (Abdullah et al. 2014):

$$y = ax + b \dots\dots\dots \text{Persamaan (2.2)}$$

Keterangan:

y = % inhibisi	a = gradien
x = konsentrasi	b = konstanta

Semakin kecil nilai IC_{50} , maka semakin tinggi aktivitas antioksidan suatu bahan (Martiningsih et al. 2016). Secara spesifik, suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan yang sangat kuat bila nilai $IC_{50} < 50$ ppm, kuat bila nilai IC_{50} bernilai 50-100 ppm, sedang bila nilai IC_{50} bernilai 100-150 ppm, dan lemah bila nilai IC_{50} bernilai 151-200 ppm (Molyneux 2004).

2.7 Spektrofotometri UV-Vis.

Spektrofotometri UV-Vis adalah pengukuran panjang gelombang dan intensitas sinar ultraviolet dan cahaya tampak yang diabsorpsi oleh sampel. Sinar ultraviolet dan cahaya tampak memiliki energi yang cukup untuk mempromosikan elektron pada kulit terluar ke tingkat energi yang lebih tinggi. Spektrofotometri UV-Vis biasanya digunakan untuk molekul dan ion anorganik atau kompleks di dalam larutan. Sinar ultraviolet berada pada panjang gelombang 200-400 nm, sedangkan sinar tampak berada pada panjang gelombang 400-800 nm (Suarsa 2015).

Bagian dari molekul yang paling cepat bereaksi dengan sinar ultraviolet dan sinar tampak adalah elektron-elektron ikatan dan elektron-elektron nonikatan

(elektron bebas). Sinar ultraviolet dan sinar tampak merupakan energi yang bila mengenai elektron-elektron tersebut, maka elektron akan tereksitasi dari keadaan dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi, eksitasi elektron-elektron ini, direkam dalam bentuk spektrum yang dinyatakan sebagai panjang gelombang dan absorbansi, sesuai dengan jenis elektron-elektron yang terdapat dalam molekul yang dianalisis. Makin mudah elektron-elektron bereksitasi makin besar panjang gelombang yang diabsorpsi, makin banyak elektron yang bereksitasi makin tinggi absorbansi (Suhartati 2013).

Spektrofotometri UV-Visible dapat digunakan untuk penentuan terhadap sampel yang berupa larutan, gas, atau uap. Pada umumnya sampel harus diubah menjadi suatu larutan yang jernih. Untuk sampel yang berupa larutan perlu diperhatikan beberapa persyaratan pelarut yang dipakai antara lain (Suhartati 2013) :

1. Harus melarutkan sampel dengan sempurna.
2. Pelarut yang dipakai tidak mengandung ikatan rangkap terkonjugasi pada struktur molekulnya dan tidak berwarna (tidak boleh mengabsorpsi sinar yang dipakai oleh sampel)
3. Tidak terjadi interaksi dengan molekul senyawa yang dianalisis
4. Kemurniannya harus tinggi.

Pada spektrofotometri UV-Vis ada beberapa istilah yang digunakan terkait dengan molekul, yaitu kromofor, auksokrom, efek batokromik atau pergeseran merah, efek hipsokromik atau pergeseran biru, hiperkromik, dan hipokromik. Kromofor adalah molekul atau bagian molekul yang mengabsorpsi sinar dengan kuat di daerah UV-Vis, misalnya heksana, aseton, asetilen, benzena, karbonil, karbondioksida, karbonmonoksida, gas nitrogen. Auksokrom adalah gugus fungsi yang mengandung pasangan elektron bebas berikatan kovalen tunggal, yang terikat pada kromofor yang mengintensifkan absorpsi sinar UV-Vis pada kromofor tersebut, baik panjang gelombang maupun intensitasnya, misalnya gugus hidroksi, amina, halida, alkoksi (Suhartati 2013).

2.7.1 Bagian-bagian dari alat spektrofotometer UV-Vis

2.7.1.1 Sumber Cahaya

Sumber cahaya pada spektrofotometri UV-Vis dapat berupa Lampu Tungsten (Wolfram) atau Lampu Deuterium. Lampu Tungsten digunakan untuk mengukur sampel pada daerah tampak dengan panjang gelombang antara 350-2200 nm, spektrum radiasinya berupa garis lengkung, umumnya memiliki waktu 1000 jam pemakaian. Lampu Deuterium dipakai untuk mengukur sampel yang terletak pada daerah uv dengan panjang gelombang 190-380 nm, spektrum energi radiasinya lurus, memiliki waktu 500 jam pemakaian.

2.7.1.2 Monokromator

Monokromator berfungsi sebagai penyeleksi panjang gelombang yaitu mengubah cahaya yang berasal dari sumber sinar polikromatis menjadi cahaya monokromatis. Jenis monokromator yang saat ini banyak digunakan adalah grating dan filter optik. Jika digunakan grating maka cahaya akan dirubah menjadi spektrum cahaya. Sedangkan filter optik berupa lensa berwarna sehingga cahaya yang diteruskan sesuai dengan warna lensa yang dikenai cahaya.

Tabel 2.4 Bagian – bagian Monokromator.

Nama Bagian	Fungsi
Prisma	Berfungsi mendispersikan radiasi elektromagnetik sebesar mungkin supaya di dapatkan resolusi yang baik dari radiasi polikromatis.
Kisi difraksi	Berfungsi menghasilkan penyebaran dispersi sinar secara merata, dengan pendispersi yang sama, hasil dispersi akan lebih baik.
Celah optis	Berfungsi untuk mengarahkan sinar monokromatis yang diharapkan dari sumber radiasi.
Filter	Berfungsi untuk menyerap warna komplementer sehingga cahaya yang diteruskan merupakan cahaya berwarna yang sesuai dengan panjang gelombang yang dipilih.

(Sumber: Suarsa 2015)

2.7.1.3 Kuvet

Kuvet merupakan wadah sampel yang akan dianalisis pada spektrofotometer UV-VIS. Kuvet biasanya terbuat dari kuarsa atau gelas, namun kuvet dari kuarsa yang terbuat dari silika memiliki kualitas yang lebih baik. Hal

ini disebabkan yang terbuat dari kaca dan plastik dapat menyerap UV sehingga penggunaannya hanya pada spektrofotometer sinar tampak (VIS). Cuvet biasanya berbentuk persegi panjang dengan lebar 1 cm. Kuvet yang baik mempunyai ciri-ciri seperti permukaannya sejajar secara optis, tidak berwarna sehingga semua cahaya dapat ditransmisikan, tidak ikut bereaksi terhadap bahan-bahan kimia, tidak rapuh serta memiliki bentuk yang sederhana.

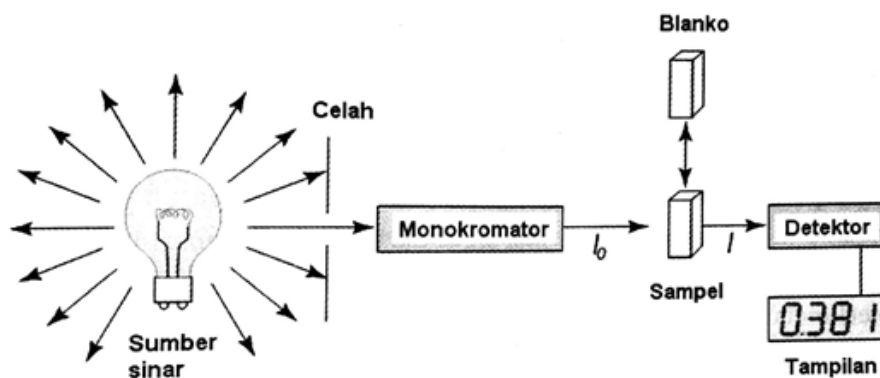
2.7.1.4 Detektor

Detektor berfungsi menangkap cahaya yang diteruskan dari sampel dan mengubahnya menjadi arus listrik. Terdapat 2 jenis detektor yang biasa digunakan yaitu Phototube dengan jangkauan panjang gelombang (λ) 150 – 1000 nm dan Photomultiplier dengan jangkauan panjang gelombang (λ) 150 – 1000 nm. Sebuah detektor harus memiliki kepekaan yang tinggi, perbandingan isyarat atau signal dengan bising tinggi, respon konstan pada berbagai panjang gelombang, waktu respon cepat dan signal minimum tanpa radiasi serta signal listrik yang dihasilkan harus sebanding dengan tenaga radiasi

2.7.1.5 Read Out

Read out merupakan suatu sistem baca yang menangkap besarnya isyarat listrik yang berasal dari detektor.

(Suarsa 2015).



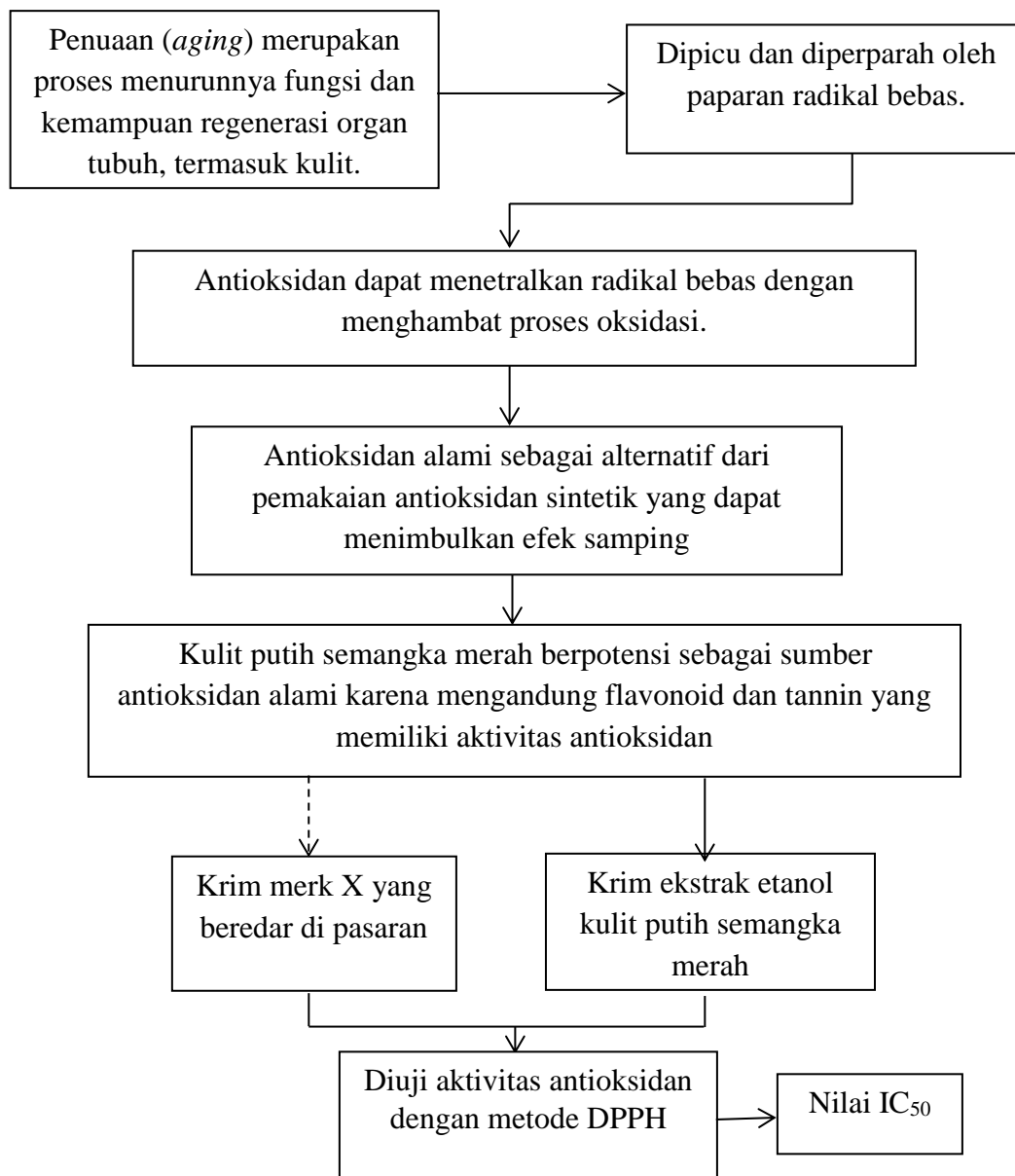
Gambar 2.4 Skematis spektrofotometer UV-Vis

(Sumber: Watson 2009)

2.8 Analisis Statistik

Pengolahan data penelitian ini dilakukan secara kuantitatif dengan menghitung aktivitas antioksidan (potensi penghambat radikal bebas) pada krim ekstrak etanol kulit putih semangka merah dan krim antioksidan yang beredar di pasaran. Data yang diperoleh pada penelitian ini yaitu persentase penghambatan dan nilai IC_{50} . Kemudian dilakukan analisis statistik dengan menggunakan IBM SPSS. Data yang akan dianalisis menggunakan skala numerik, jenis hipotesis komparatif yaitu membandingkan aktivitas antioksidan antara krim ekstrak etanol kulit putih semangka merah dan krim antioksidan yang beredar di pasaran. Data terdiri dari 2 kelompok dan merupakan kelompok tidak berpasangan karena kelompok anggota mempunyai sifat yang berbeda. Dari penjelasan tersebut, data penelitian ini diuji normalitas dan uji varians terlebih dahulu sebagai syarat uji parametrik. Namun, karena homogenitas varians bukan merupakan syarat mutlak bagi data dengan 2 kelompok uji, maka pemenuhan syarat uji parametrik hanya dilihat dari hasil uji normalitas. Bila data memenuhi persyaratan uji parametrik maka data diuji dengan Uji T tidak berpasangan. Sedangkan bila data tidak memenuhi persyaratan uji parametrik, maka dilakukan uji non parametrik dengan uji *Mann Whitney*.

2.9 Kerangka Konseptual



Gambar 2.5 Kerangka Konseptual

2.10 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah diduga tidak terdapat perbedaan aktivitas antioksidan antara krim ekstrak etanol kulit putih semangka merah (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum & Nakai) dan krim antioksidan merk X yang beredar di pasaran.