# **BAB II****TINJAUAN PUSTAKA**

## **2.1 Tanaman Jeruk Bali**

Jeruk bali, jeruk besar, atau yang lebih dikenal dengan sebutan jeruk pamelo (bahasa Inggris: pomelo, latin: (*Citrus maxima* (Burm) Merr.) merupakan jeruk penghasil buah terbesar. Nama "Pamelo" sekarang disarankan oleh Departemen Pertanian karena jeruk ini tidak ada kaitannya dengan Bali. Jeruk ini termasuk jenis jeruk yang mampu beradaptasi dengan baik pada daerah kering dan relatif tahan terhadap penyakit (Tahir et al., 2018).

Jeruk bali (*Citrus maxima* (Burm) Merr.) genus dari citrus dan famili Rutacea adalah tanaman asli pulau Malayu dan Timur India yang menyebar luas di Cina, Jepang, Filipina, Indonesia, Amerika Serikat dan Thailand. Beberapa penelitian telah dilakukan di india, China dan Malaysia untuk mengkaji manfaat dari jeruk pamelo baik dari akar, daun dan buah. Tiap bagian tanaman jeruk pamelo memiliki manfaat yang berbeda (Tahir et al., 2018).

Jeruk bali tumbuh di daerah tropis sehingga jeruk pamelo potensial untuk dikembangkan di Indonesia namun produksinya masih fluktuatif, hal ini ditunjukkan pada produksi tahun 2011- 2015 secara berurutan sebesar 97.069 ton, 113.388 ton, 106.344 ton, 141.296 ton, dan 111.753 ton. Jeruk bali berukuran besar, memiliki rasa segar, dan daya simpan yang lama sampai 4 bulan merupakan ciri khas dari jeruk pamelo (Hermansyah, 2018).

## **2.1.1 Klasifikasi Tanaman Jeruk Bali**



# **Gambar 2.1** Tanaman Jeruk Bali (*Citrus maxima* (Burm) Merr.)

 Sistematika tanaman jeruk bali berdasarkan hasil identifikasi Herbarium Medanense (MEDA) Universitas Sumatera Utara adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae

Divisi : Spermatopyta

Kelas : Dicotyledoneae

Ordo : Sapindales

Famili : Rutaceae

Genus : *Citrus*

Spesies : (*Citrus maxima* (Burm) Merr.)

Nama Lokal : Buah Jeruk Bali

## **2.1.2 Morfologi Tumbuhan**

Ciri-ciri pohon jeruk Bali yaitu tingginya mencapai 5-15 meter dengan batang yang kokoh dan pertengahan garis pohon berada sekitar 10-30 meter. Tiap cabang pohon ini menyebar dan pada ujungnya seperti membungkuk. Ciri khas daunnya memiliki bentuk yang bulat seperti telur dengan ukurannya yang besar membentuk sayap lebar serta bagian atas yang rata dan ujung daun yang bergelombang (Filbert et al., 2023). Daun jeruk bali memiliki karakteristik pembagian daun tunggal, intensitas warna sedang, nisbah tangkai lebih pendek, panjang helai daun 13,6 cm, lebar helai daun 7,1 cm, bentuk helai daun oval, dan tepi daun rata (Zhafira, 2019).

Jeruk bali (*Citrus maxima* (Burm) Merr.) terdiri atas 2 bagian yaitu bagian kulit dengan warna yang bermacam-macam dan bagian daging buahnya yang berwarna merah muda dan berbentuk kantong-kantong sari (Filbert et al., 2023). Rasanya bervariasi dari agak manis hingga manis dan hambar, asam dan terkadang ada sedikit rasa pahit.

## **2.1.3 Manfaat dan Kandungan Tumbuhan**

Data dari Kementerian Kesehatan tahun 2019 menunjukkan bahwa kandungan jeruk bali dihitung per 100 gram diantaranya vitamin C, niasin, riboflavin, thiamin, karoten, seng (Zn), kalium (K), natrium (Na), besi (Fe), kalsium (Ca), Tembaga (Cu), Abu (ASH), serat, karbohidrat, lemak, protein, dan air (Rizko et al., 2020). Buah jeruk bali mengandung likopen, flavonoid, provitamin A, vitamin C, pektin, vitamin B1 dan B2, asam folat, protein, lemak karbohidrat, retinol, kalsium dan fosfor. Berdasarkan kandungan senyawa kimianya, maka buah jeruk bali merupakan salah satu bahan alam yang potensial untuk dikembangkan bagi kesehatan misalnya sebagai antioksidan (Tahir et al., 2018).

Bagian jeruk bali dapat digunakan sebagai obat tradisional. Beberapa manfaat dari jeruk bali antara lain daunnya yang dapat digunakan untuk menyembuhkan penyakit epilepsies, klorea, batuk, serta dapat juga digunakan sebagai pengobatan pada pendarahan. Minyak dari daun jeruk bali yang segar dapat digunakan sebagai anti-fungisida. Buah jeruk dapat digunakan untuk mengobati asma, batuk, epilepsi, dan kardiotonik. Kulit buah dapat digunakan sebagai pengobatan asma, mengobati muntah, diare, sakit kepala dan masalah pada mata. Akar pada tanaman dapat digunakan untuk menghambat aktivitas anti mikroba (Rizko et al., 2020).

## **2.2 Simplisia**

Simplisia adalah bentuk jamak dari kata simpleks yang berasal dari kata simple, berarti satu atau sederhana. Istilah simplisia dipakai untuk menyebut bahan-bahan obat alam yang masih berada dalam wujud aslinya atau belum mengalami perubahan bentuk. Simplisia adalah bahan alami yang digunakan untuk obat dan belum mengalami perubahan proses apapun dan kecuali dinyatakan lain umumnya berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia memiliki banyak keunggulan antara lain efek sampingnya relatif lebih kecil dari pada obat-obatan kimia. Berdasarkan hal itu maka simplisia dibagi menjadi tiga golongan yaitu simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia pelikan/mineral (Ulfah et al., 2022).

1. Simplisia Nabati

Simplisia nabati adalah simplisia yang dapat berupa tanaman utuh, bagian tanaman, eksudat tanaman atau gabungan antara ketiganya. Eksudat tanaman adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau dengan cara tertentu sengaja di keluarkan dari selnya. Eksudat tanaman dapat berupa zat-zat atau bahan-bahan nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan/diisolasi dari tanamannya (Ulfah et al., 2022).

Bahan-bahan nabati yang dapat digunakan sebagai obat antara lain dapat berasal dari kulit tumbuhan (misalnya kulit buah delima yang berkhasiat sebagai obat cacing), akar (misalnya akar tapak dara yang berkhasiat sebagai obat diabetes dan obat kanker), daun (misalnya daun saga yang berkhasiat sebagai obat sariawan, dan obat batuk), bunga (misalnya bunga cengkeh yang berkhasiat untuk menghilangkan mual dan muntah), buah (misalnya mahkota dewa yang berkhasiat untuk obat asam urat), biji (misalnya biji kopi yang berkhasiat sebagai penawar racun), dan lain-lain. Biasanya, simplisia dijadikan obat-obatan tradisional dalam bentuk larutan, serbuk, tablet, maupun kapsul.

1. Simplisia Hewani

Simplisia hewani adalah simplisia bisa berupa hewan utuh atau zat-zat berguna dari hewan yang belum diubah menjadi bahan kimia murni misalnya, minyak ikan dan madu (Evifania et al., 2020).

1. Simplisia Mineral

Simplisia pelikan dan mineral adalah simplisia berupa bahan pelican atau mineral yang diolah dengan sederhana yang belum berupa bahan kimia murni contohnya, serbuk seng dan serbuk tembaga (Evifania et al., 2020).

Standarisasi simplisia dilakukan untuk menjaga stabilitas dan keamanan serta mempertahankan konsistensi kandungan senyawa aktif dalam simplisia. Faktor lingkungan, iklim, ketinggian, kualitas bibit, teknologi budidaya, umur tanaman, cara pengolahan, cara pengepakan dan penyimpanan simplisia berpengaruh pada kualitas dan mutu simplisia (Evifania et al., 2020). Standarisasi simplisia meliputi parameter diantaranya:

1. Parameter Spesifik
2. Organoleptis, dapat memberikan gambaran kerusakan produk dan kualitas bahan misalnya akibat proses pembusukan Dilakukan dengan pengenalan secara fisik menggunakan panca indera untuk mendeskripsikan bentuk, bau, warna, dan juga rasa (Utami et al., 2020).
3. Makroskopik, dilakukan dengan menggunakan kaca pembesar atau tanpa menggunakan alat. Uji dilakukan untuk mencari khususnya morfologi, ukuran, dan warna simplisia yang diuji (Fajriyah, 2018).
4. Mikroskopik, dilakukan dengan menggunakan mikroskop yang derajat pembesarannya disesuaikan dengan keperluan. Simplisia yang diuji dapat berupa sayatan melintang, radial, paradermal maupun membujur atau berupa serbuk. Pada uji mikroskopik dicari unsur – unsur anatomi jaringan yang khas. Dari pengujian ini akan diketahui jenis simplisia berdasarkan fragmen pengenal yang spesifik bagi masing – masing simplisia. Dengan melihat ciri-ciri mikroskopik simplisia dapat diketahui benar tidaknya sebuah simplisia. Anatomi jaringan yang teramati yaitu kristal kalsium oksalat, fragmen xilem dengan floem, fragmen lamina daun, fragmen epidermis dan fragmen parenkim (Fajriyah, 2018).
5. Parameter Non Spesifik
6. Susut pengeringan, menunjukkan jumLah zat yang menguap atau hilang akibat pemanasan (Fajriyah, 2018).
7. Kadar air, merupakan parameter untuk menetapkan residu air setelah proses pengeringan. Penentuan kadar air juga terkait dengan kemurnian ekstrak. Kadar air yang terlalu tinggi (>10%) menyebabkan tumbuhnya mikroba yang akan menurunkan stabilitas ekstrak (Utami et al., 2020).
8. Kadar sari larut dalam air dan etanol, bertujuan untuk memberikan gambaran awal jumLah senyawa yang dapat tersari dengan pelarut air (Handayani et al., 2019).
9. Kadar abu dan kadar abu larut asam, dilakukan untuk menentukan baik tidaknya pengolahan suatu simplisia serta memberikan gambaran kandungan mineral yang terdapat pada simplisia baik kandungan internal maupun eksternal. Besarnya kadar abu dan kadar abu tidak larut asam yang diperoleh menandakan adanya pengotor yang terdapat pada simplisia yang berasal dari tanah silikat simplisia, debu dan pasir (Handayani et al., 2019).

Pada umumnya pembuatan simplisia melalui tahapan seperti berikut: Pengumpulan simplisia, sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, sortasi kering, pengepakan dan penyimpanan (Yasi et al., 2022).

## **2.3 Ekstraksi**

Ekstraksi adalah proses perpindahan suatu zat atau solut dari larutan asal atau padatan ke dalam pelarut tertentu. Ekstraksi merupakan proses pemisahan berdasarkan perbedaan kemampuan melarutnya komponen-komponen yang ada dalam campuran. Secara garis besar ekstraksi dibedakan menjadi dua macam, yaitu ekstraksi padat-cair (leaching) dan ekstraksi cair-cair. Ekstraksi padat-cair atau leaching adalah proses pemisahan solut dari padatan yang tidak dapat larut yang disebut inert (Aji et al., 2017). Ekstraksi cair-cair adalah suatu metode pemisahan untuk memisahkan satu atau lebih komponen dalam suatu campuran homogen dengan penambahan pelarut cair yang membuatnya terpisah menjadi dua fase yaitu fase organik dan fase aqueous (Sugiarto et al., 2023).

### **2.3.1 Metode Ekstraksi**

Ekstraksi dapat dilakukan dengan beberapa cara:

1. Cara Dingin
2. Maserasi merupakan metode ekstraksi dengan proses perendaman bahan dengan pelarut yang sesuai dengan senyawa aktif yang akan diambil dengan pemanasan rendah atau tanpa adanya proses pemanasan. Faktor-faktor yang mempengaruhi ekstraksi antara lain waktu, suhu, jenis pelarut, perbandingan bahan dan pelarut, dan ukuran partikel. Ekstraksi dengan metode maserasi memiliki kelebihan yaitu terjaminnya zat aktif yang diekstrak tidak akan rusak. Pada saat proses perendaman bahan akan terjadi pemecahan dinding sel dan membran sel yang diakibatkan oleh perbedaan tekanan antara luar sel dengan bagian dalam sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan pecah dan terlarut pada pelarut organik yang digunakan (Chairunnisa et al., 2019).
3. Perkolasi adalah ekstraksi yang dilakukan pada suhu ruangan dengan pelarut yang selalu baru. Prinsip kerja perkolasi, simplisia dimasukkan ke dalam perkolator dan pelarut dialirkan dari atas melewati simplisia sehingga zat terlarut mengalir ke bawah dan ditampung (Tutik et al., 2022).
4. Cara Panas
5. Refluks adalah metode ekstraksi dengan bantuan pemanasan. Hal yang sangat berpengaruh terhadap ekstraksi menggunakan refluks adalah adanya penambahan pemanasan dan pelarut yang digunakan akan tetap dalam keadaan segar karena adanya penguapan kembali yang terendam pada bahan. Ekstraksi refluks digunakan untuk mengekstraksi bahan-bahan yang tahan terhadap pemanasan dan memiliki tekstur yang kasar seperti batang, biji, akar (Hasnaeni. et al., 2019).
6. Sokletasi yaitu metode ekstraksi panas dingin. Pada ekstraksi ini pelarut dan sampel ditempatkan secara terpisah. Prinsipnya adalah ekstraksi dilakukan secara terus-menerus menggunakan pelarut yang relatif sedikit. Bila ekstraksi telah selesai maka pelarut dapat diuapkan sehingga akan diperoleh ekstrak. Biasanya pelarut yang digunakan adalah pelarut-pelarut yang mudah menguap atau mempunyai titik didih yang rendah (Hasnaeni. et al., 2019).
7. Digesti adalah metode ekstraksi dengan cara maserasi kinetik (pengadukan kontinyu) dengan menggunakan pemanasan lemah, yaitu pada suhu 400C-500C (Saepudin et al., 2020).
8. Infundasi adalah ekstraksi dengan cara perebusan, dimana pelarutnya adalah air pada suhu 900C selama 15 menit. Infundasi merupakan proses penyarian yang paling umum digunakan untuk menyari kandungan zat aktif yang larut dalam air dari bahan-bahan nabati. Metode ini mempunyai kelemahan yaitu sari yang dihasilkan tidak stabil dan mudah tercemar oleh kuman dan kapang sehingga sari yang diperoleh dengan cara ini tidak boleh disimpan lebih dari 24 jam (Rahmi et al., 2019).
9. Dekokta adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air mendidih, temperatur pada 90ºC selama 30 menit (Tandah, 2016).

## **2.4 Senyawa Metabolit Sekunder**

Metabolit sekunder merupakan senyawa kimia yang diproduksi oleh tanaman dalam bentuk yang tidak sama antara satu spesies dengan yang lainnya. Metabolit sekunder diproduksi sebagai bentuk pertahanan diri terhadap gangguan dari organisme lain dan lingkungan. Senyawa metabolit sekunder jumLahnya kurang lebih 200.000 bentuk produk metabolit sekunder, sehingga untuk mengetahui jenis jenis metabolit sekunder perlu dilakukan pengelompokkan berdasarkan sifat struktural (Hersila et al., 2023). Metabolit sekundernya adalah flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, steroid, triterpenoid dan terpenoid (Nola et al., 2021).

### **2.4.1 Alkaloid**

Alkaloid adalah senyawa metabolit sekunder terbanyak yang memiliki atom nitrogen, yang ditemukan dalam jaringan tumbuhan. Alkaloid berperan dalam metabolisme dan mengendalikan perkembangan dalam sistem kehidupan tumbuhan. Alkaloid dapat ditemukan pada berbagai bagian tanaman, seperti bunga, biji, daun, ranting, akar dan kulit batang. Alkaloid umumnya ditemukan dalam kadar yang kecil dan harus dipisahkan dari campuran senyawa yang rumit yang berasal dari jaringan tumbuhan. Ciri-ciri alkaloid umumnya berbentuk padat (kristal), meskipun dalam suhu kamar ada yang cair (misalkan nikotin), memutar bidang polarisasi, terasa pahit, bentuk garam larut dalam air dan larut dalam pelarut organik dalam bentuk bebas atau basanya (Maisarah et al., 2023). Struktur kimia alkaloid dapat dilihat pada Gambar 2.2



# **Gambar 2.2** Struktur kimia Alkaloid

### **2.4.2 Flavonoid**

Flavonoid adalah senyawa metabolit sekunder yang termasuk dalam kelompok senyawa fenol yang struktur benzenanya tersubstitusi dengan gugus OH. Senyawa ini merupakan senyawa terbesar yang ditemukan di alam dan terkandung baik di akar, kayu, kulit, daun, batang, buah, maupun bunga. Pada umumnya senyawa flavonoid terdapat pada tumbuhan tingkat tinggi. Sekitar 5-10% senyawa metabolit sekunder pada tumbuhan adalah flavonoid.

Flavonoid merupakan senyawa kimia turunan dari 2-phenyl-benzyl-γ-pyrone dengan biosintesis menggunakan jalur fenilpropanoid. Flavonoid berperan dalam memberikan warna, rasa pada biji, bunga, buah dan aroma. Senyawa flavonoid bersifat mudah teroksidasi pada suhu tinggi dan tidak tahan panas. Flavonoid memiliki efek farmakologi sebagai antioksidan, anti penuaan, anti-inflamasi, anti-virus, dan lainnya. Flavonoid memiliki jenis sub kelompok diantaranya yaitu flavon, flavonol, flavanon, flavanonol, flavanol atau katekin, antosianin dan chalcones (Ningsih et al., 2023). Struktur kimia flavonoid dapat dilihat pada Gambar 2.3



**Gambar 2.3** Struktur kimia Flavonoid (Ningsih et al., 2023)

### **2.4.3 Tanin**

Tanin merupakan jenis senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman dan disintesis oleh tanaman itu sendiri. Sebagian besar tanin terdapat pada vakuola atau dinding permukaan tanaman, seperti pada tunas, jaringan akar, daun, batang, dan benih. Tanin terbagi atas dua jenis, yaitu tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Pada tanaman, jumlah tanin terkondensasi lebih dominan dari pada tanin terhidrolisis (Hersila et al., 2023).

Secara umum tanin memiliki sifat tertentu, terutama dalam fisika dan kimia. Sifat fisika tanin adalah: 1) membentuk koloid jika dilarutkan dalam air, 2) memiliki bau yang khas, rasa asam dan sepat, 3) berupa serbuk amorf, dan 4) tidak memiliki titik leleh. Sedangkan sifat kimia tanin adalah: 1) sulit dipisahkan dan sulit dikristalisasi, 2) larut dalam pelarut organik, dan 3) dapat dihidrolisis oleh asam, basa dan enzim (Hersila et al., 2023). Struktur kimia tanin dapat dilihat pada Gambar 2.4

**Gambar 2.4** Struktur Kimia Tanin (Hersila et al., 2023)

### **2.4.4 Saponin**

Saponin merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder dalam tumbuhan yang ditandai busa stabil ketika dilarutkan dan digojog dalam air. Saponin adalah jenis glikosida yang banyak ditemukan dalam tumbuhan. Saponin merupakan golongan senyawa alam yang rumit dan mempunyai masa molekul besar terdiri dari aglikon baik steroid atau triterpenoid dengan satu atau lebih rantai gula/ glikosida dan berdasarkan atas sifat kimiawinya, saponin dapat dibagi dalam dua kelompok yaitu: steroid dengan 27 atom C dan triterpenoids dengan 30 atom C (Gunawan, 2018). Struktur kimia saponin dapat dilihat pada Gambar 2.5



**Gambar 2.5** Struktur Kimia Saponin (Minarno, 2016)

### **2.4.5 Glikosida**

Glikosida merupakan suatu senyawa metabolit sekunder yang berikatan dengan senyawa gula melalui ikatan glikosida. Kata glikosida memiliki makna, yaitu suatu karbohidrat atau gula yang umumnya bersifat oksidator yang disebut dengan glikon. Sedangkan bukan gula disebut sebagai aglikon. Glikosida adalah senyawa alami yang terdiri dari dua bagian yaitu bagian karbohidrat dan bagian bukan karbohidrat.

Glikosida triterpenoid, steroid, dan flavonoid merupakan bagian glikosida bukan karbohidrat yang paling banyak ditemukan. Sedangkan bagian karbohidrat yang paling banyak ditemukan yaitu glukosa, galaktosa, xilosa, dan arabinosa (Ravelliani et al., 2021). Struktur kimia glikosida dapat dilihat pada Gambar 2.6.

**Gambar 2.6** Struktur Kimia Glikosida

### **2.4.6 Steroid/Triterpenoid**

Terpenoid adalah turunan terdehidrogenasi dan teroksidasi dari senyawa terpen. Terpen adalah kelompok hidrokarbon, terutama diproduksi oleh tumbuhan dan beberapa hewan seperti serangga. Rumus molekul terpena adalah (C5H8). Terpenoid disebut juga isoprenoid. Hal ini karena kerangka karbonnya sama dengan senyawa isoprena. Secara kimia, terpenoid adalah campuran unit isoprena, yang dapat berupa rantai terbuka atau siklik, dan dapat mengandung ikatan rangkap, gugus hidroksil, gugus karbonil, atau gugus fungsional lainnya (Nola et al., 2021).

Turunan senyawa terpenoid yaitu triterpenoid. Triterpenoid ialah kerangka karbon yang berasal dari enam satuan isoprene (2 – metilbuta-1,3-diene) satuan C5 dan diturunkan dari hidrokarbon C30 asiklik, yakni skualena. Steroid merupakan golongan triterpenoid yang mengandung inti siklopentana perhidrofenantrena, yang terdiri dari tiga cincin sikloheksana dan satu cincin siklopentana (Nola et al., 2021). Struktur kimia triterpenoid dapat dilihat pada Gambar 2.7



**Gambar 2.7** Struktur Kimia Triterpeoid (Vaelani et al., 2022)

## **2.5 Nanopartikel**

Nanopartikel adalah partikel ultra halus dalam ukuran orde nanometer. Kata Nano adalah awalan yang menunjukkan pangkat minus 9 dari sepuluh, yaitu satu per miliar. Dalam konteks ini, nanometer (nm) digunakan sebagai satuan panjang. Satu nm adalah panjang yang sangat kecil, setara dengan satu per miliar meter, satu per juta milimeter, atau satu per seribu mikrometer (Hosokawa et al., 2007).

Definisi nanopartikel dapat berbeda tergantung pada bahan, bidang, dan aplikasi yang terkait. Dalam pengertian yang lebih sempit, nanopartikel dianggap sebagai partikel yang lebih kecil dari 10-20 nm, di mana sifat fisik bahan padat itu sendiri akan berubah secara drastis. Di sisi lain, partikel dalam rentang tiga digit nanometer dari 1 nm hingga 1 μm dapat disebut sebagai nanopartikel. Dalam beberapa kasus partikel dari 1 hingga 100 nm umumnya disebut sebagai nanopartikel, tetapi di sini akan dianggap sebagai partikel yang lebih kecil dari yang secara konvensional disebut partikel submikron, dan secara konkret lebih kecil dari panjang gelombang cahaya tampak (batas bawahnya sekitar 400 nm) sebagai ukuran, yang perlu diperlakukan berbeda dari partikel submikron (Hosokawa et al., 2007).

Nanopartikel dapat di aplikasikan untuk menghantarkan obat dengan molekul kecil atau makromolekul besar dengan cara memerangkap atau mengenkapsulasi molekul obat kedalam suatu polimer. Polimer yang digunakan untuk membentuk nanopartikel dapat berupa polimer sintetik dan alami. Salah satu polimer yang dapat diaplikasikan dalam formulasi nanopartikel salah satunya adalah kitosan dengan agen pengikat silang natrium tri-poli-fosfat (Na-TPP). Gelasi ionik dapat dimanfaatkan untuk pembentukan nanopartikel, metode ini mempunyai kelebihan yaitu prosesnya yang sederhana atau mudah, pelarut yang digunakan bukan berasal dari pelarut organik serta prosesnya dapat dikontrol dengan mudah (Fitri et al., 2020).

Gelasi ionik merupakan metode pembuatan nanopartikel yang melibatkan proses sambung silang antara polielektrolit dengan adanya pasangan ion multivalennya. Mekanisme pembentukkan nanopartikel kitosan dengan metode ini didasarkan pada interaksi elektrostatik antara muatan positif gugus amina kitosan dan muatan negatif gugus polianion seperti tripolipfosfat. Akibat dari kompleksasi muatan yang berbeda, kitosan mengalami gelasi ionik dan presipitasi membentuk partikel bulat (Utami et al., 2022).

### **2.5.1 Manfaat Nanopartikel**

Manfaat utama pembuatan nanopartikel dalam sistem penghantaran obat adalah untuk mengatur ukuran partikel dan pelepasan zat aktif pada tempat spesifik di dalam tubuh sebagai sasaran pengobatan. Kelebihan dalam penggunaan nanopartikel sebagai sistem penghantaran obat antara lain ukuran partikel dan karakteristik permukaan nanopartikel dapat dengan mudah dimanipulasi sesuai dengan target pengobatan, nanopartikel dapat mengatur dan memperpanjang pelepasan obat selama proses transportobat ke sasaran, obat dapat dimasukkan kedalam sistem nanopartikel tanpa reaksi kimia dan sistem nanopartikel dapat diterapkan untuk berbagai sasaran pengobatan karena nanopartikel masuk kedalam sistem peredaran darah dan dibawa oleh darah menuju target pengobatan (Prayoga, 2020).

### **2.5.2 Karakteristik Nanopartikel**

Penentuan karakteristik nanopartikel diperlukan untuk mendapat pengertian mekanis dari perilaku nanopartikel. Hal ini dapat digunakan untuk memperkirakan kinerja dan untuk merancang partikel, pengembangan formulasi dan mengatasi masalah-masalah dalam proses pembuatan nanopartikel (Abdassah, 2017). Karaketrisasi nanopartikel menggunakan alat Zetasizer Nano ZS (Malvern) untuk mengetahui ukuran partikel, indeks polidipersitas (adanya distribusi ukuran partikel) dan zeta potensial.

1. Ukuran Partikel Menggunakan Zetasizer Nano ZS

Zetasizer Nano ZS merupakan alat yang bekerja menggunakan metode dynamic light scettaring (DLS). DLS adalah teknik hamburan sinar laser yang mampu menganalisis distribusi ukuran partikel dalam rentang nanometer sampai mikron. Prinsip kerjanya ketika sinar cahaya koheren menyebar akibat gerak brown, adanya gangguan menyebabkan fluktuasi dalam pembacaan. Gerak brown dipengaruhi oleh ukuran partikel, viskositas, dan suhu (Nurhidayati et al., 2020).

Alat Zetasizer Nano ZS dapat digunakan untuk menganalisis berbagai jenis sampel dan parameter, terutama yang berkaitan dengan ukuran partikel, distribusi ukuran partikel dan potensial zeta.

1. Indeks Polidispersitas

Nilai indeks polidispersitas adalah parameter untuk mengetahui keseragaman atau homogenitas dari nanopartikel. Nilai indeks polidispersitas mendekati 0 menunjukan ukuran partikel yang homogen, nilai indeks polidispersitas kurang dari 0,3 bersifat monodispersi, nilai indeks polidispersitas dari 0,3-0,7 bersifat polidispersi, nilai indeks polidispersitas >0,7 yaitu superdispersi. Semakin kecil nilai indeks polidispersitas maka partikel semakin homogen (Utami et al., 2022).

1. Zeta Potensial

Zeta potensial adalah parameter yang menunjukan muatan permukaan atau muatan listrik antar partikel. Hal ini berkaitan dengan kecenderungan tarik menarik dan tolak menolak antar partikel. Idealnya, nilai zeta potensial harus lebih tinggi dari medium pendispersinya untuk mencegah terjadinya agregasi. Nanopartikel dengan nilai zeta potenssial lebih kecil dari -30 mV dan lebih besar dari +30 mV memiliki stabilitas yang lebih tinggi (Utami et al., 2022).

## **2.6 Radikal Bebas**

### **2.6.1 Pengertian Radikal Bebas**

Radikal bebas merupakan molekul tidak stabil yang mencari pasangan elektron untuk mencapai kestabilan dan disebut juga *Reactive Oxygen Species* (ROS). Radikal bebas akan menstabilkan diri dengan mengambil elektron dari molekul lain yang menyebabkan molekul tersebut menjadi radikal baru, yang dapat merusak sel, mengganggu fungsinya, atau menyebabkan kematian sel (Simanjuntak, 2020).

Jumlah radikal bebas yang berlebihan dalam tubuh dapat menyebabkan stres oksidatif, yang mengakibatkan kerusakan pada sel, jaringan, dan organ, mempercepat penuaan dan timbulnya penyakit (Simanjuntak, 2020). Radikal bebas terutama menyerang protein, karbohidrat, asam lemak tak jenuh, lipoprotein, dan DNA. Di antara molekul-molekul tersebut, asam lemak tak jenuh paling rentan. Kerusakan pada asam lemak tak jenuh ganda di membran sel dapat membuat dinding sel rapuh, merusak DNA, mengacaukan sistem genetika dan memicu kanker (Bahruddin, 2018)

Radikal bebas memiliki dua sifat utama yaitu reaktivitas tinggi karena cenderung menarik elektron dari senyawa lain, dan kemampuan mengubah molekul, atom, atau senyawa menjadi radikal baru. Radikal bebas akan terus mencari elektron dari molekul sekitarnya dan jika tidak dikendalikan, reaksi berantai ini akan berlangsung terus-menerus (Bahruddin, 2018).

Radikal bebas yang berupa sinar ultraviolet merupakan salah satu penyebab dari kerusakan kulit. Dalam kondisi yang berlebih, sinar UV dapat menimbulkan beberapa masalah terhadap kulit. Mulai dari kulit kemerahan, pigmentasi, bahkan dalam waktu lama menyebabkan resiko kanker. Radikal bebas yang dihasilkan akan menyebabkan kerusakan DNA, yang berdampak pada proliferasi sel secara terus menerus sehingga menjadi awal terbentuknya kanker (Syam, 2020).

### **2.6.2 Sumber-Sumber Radikal Bebas**

Radikal bebas dapat berasal dari dalam tubuh (endogen) atau luar tubuh (eksogen). Secara endogen, radikal bebas terbentuk sebagai hasil normal dari proses biokimia dalam tubuh, mempengaruhi sel (intrasel) maupun area di luar sel (ekstrasel). Radikal endogen muncul dari sisa metabolisme protein, karbohidrat, dan lemak di mitokondria, proses inflamasi, reaksi logam transisi, fagosit, xantin oksidase, peroksisom, serta kondisi iskemia (Sayuti, 2015).

Secara endogen, radikal bebas dapat timbul melalui beberapa mekanisme yaitu oto-oksidasi, aktivitas oksidasi (misalnya: siklooksigenase, lipoksigenase, dehidrogenase dan peroksidase), sistem transpor elektron (Sayuti, 2015). Radikal bebas berasal 2 sumber yaitu dari sumber endogen dan eksogen

1. Penyebab dari dalam tubuh (endogen)
2. Proses oksidasi yang berlebihan
3. Proses olahrga yang berlebihan yang mana dapat menghasilkan radikal bebas tambahan sesuai dengan bertambahnya kebutuhan energi dan pembakaran biokimia dalam tubuh.
4. Sejumlah obat yang memiliki efek oksidasi pada sel dan menyebabkan produksi radikal bebas.
5. Dalam keadaan stress psikologi yang terus menerus mengakibatkan produksi radikal bebas yang berlebihan. Karena itu banyak studi yang mengaitkan serangan jantung dan kanker.
6. Reaksi yang melibatkan besi dan logam lain.
7. Penyebab dari luar tubuh (eksogen)
8. Menghirup asap rokok: Radikal bebas dari asap rokok merusak jaringan paru-paru dan memicu pelepasan spesies oksigen reaktif dalam sel, termasuk sel darah putih.
9. Menghirup udara/lingkungan tercemar. Sama seperti rokok udara yang begitu terpolusi dan tercemar akibat buangan kendaraan bermotor, hasil pabrik dan pembakaran sampah bisa masuk melalui paru-paru manusia dan radikal bebas tersebut merusak sel-sel tubuh dengan cara menembus membrane sel.
10. Radiasi matahari/kosmis. Sinar ultraviolet yang kuat ini di pancarkan matahari dan dapat merusak sel.
11. Radiasi foto terapi (penyinaran). Sinar X atau radio isotop merupakan radikal bebas yang sangat kuat.
12. Pestisida dan zat kimia pencemaran lain. Masuk kedalam tubuh melalui makanan dan minuman yang terpapar dengan pestisida atau zat kimia pencemaran lainnya. Keadaan ini terus menerus berlangsung di saluran cerna (Sayuti, 2015).

### **2.6.3 Efek Negatif Radikal Bebas**

Radikal bebas bersifat destruktif, sangat reaktif dan mampu bereaksi dengan makromolekul sel, seperti protein, lipid, karbohidrat, atau DNA. Reaksi antara radikal bebas dan molekul itu berujung pada timbulnya suatu penyakit, antara lain:

1. Kerusakan DNA (*Deoxyribo Nucleic Acid*)

Senyawa radikal bebas merupakan salah satu factor penyebab kerusakan DNA. Penyebab lain misalnya virus, radiasi dan zat kimia karsinogen. Sebagai akibat kerusakan DNA ini dapat timbul penyakit kanker. Kerusakan dapat berupa kerusakan awal, fase transisi dan permanen.

1. Kerusakan Protein

Terjadinya kerusakan protein termasuk oksidasi protein akan mengakibatkan kerusakan jaringan tempat protein itu berada, contohnya kerusakan protein pada lensa mata mengakibatkan terjadinya katarak.

1. Kerusakan Lipid Peroksida

Radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan oksidatif pada ikatan lemak tak jenuh dalam fosfolipid membrane (lipid peroksidasi). Peroksidasi lipid pada membrane merusak struktur membrane dan menyebabkan hilangnya fungsi dari organel sel.

1. Kerusakan Membran Sel

Komponen terpenting sel mengandung asam lemak tak jenuh ganda yang sangat rentan terhadap serangan radikal bebas. Akibatnya, struktur dan fungsi membrane akan berubah, yang lebih ekstrim adalah mematikan sel-sel pada jaringan tubuh. Misalnya kerusakan sel organ tubuh.

1. Dapat Menimbulkan Autoimun

Dalam keadaan normal, antibody hanya terbentuk bila ada antigen yang masuk dalam tubuh. Autoimun adalah terbentuknya antibodi terhadap suatu sel tubuh biasa dan hal ini dapat merusak jaringan tubuh.

1. Proses penuaan

Paparan radikal bebas bagi tubuh manusia bersifat akumulatif yang akan muncul sebagai penyakit apabila system imunitas tubuh tidak lagi dapat mentoleransi keberadaan radikal bebas. Hal ini dipengaruhi oleh keseimbangan kinerja radikal bebas yang berada didalam tubuh ataupun yang masuk ke dalam tubuh melalui lingkungan dengan kadar antioksidan dalam tubuh. Bila kadar radikal bebas melampaui kemampuan tubuh mengelolanya maka akan timbul kondisi stress oksidatif. Stress oksidatif inilah yang menjadi penyebab utama penyakit stroke, jantung, tekanan darah tinggi. kanker dan lainnya (Fakriah. et al., 2019).

## **2.7 Antioksidan**

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Salah satu bentuk senyawa oksigen reaktif adalah radikal bebas, senyawa ini terbentuk di dalam tubuh dan dipicu berbagai faktor (La et al., 2021).

Ketersediaan antioksidan dalam tubuh haruslah memenuhi jumlah yang memadai, sebab dalam kondisi tertentu seperti pada keadaan patogenik akibat terbentuknya jumlah radikal bebas yang berlebih dapat memicu penurunan fungsi kerja dari enzim-enzim yang memiliki peranan sebagai antioksidan endogen. Antioksidan mampu mencegah reaksi berantai radikal bebas dengan mekanisme menyumbangkan elektron sehingga dapat menghindari kerusakan oksidatif pada molekul target, seperti protein, lipida dan DNA (La et al., 2021).

Antioksidan berdasarkan sumbernya dapat diperoleh dari bahan sintetik dan alami. Contoh antioksidan sintetik adalah Butil Hidroxil Toluen (BHT) dan Butil Hidroxil Anisol (BHA). Contoh antioksidan alami adalah vitamin A, vitamin E, vitamin C, vitamin B2 dll. Antioksidan enzimatis contohnya adalah enzim superoksida dismutase (SOD), catalase, dan glutation peroksidase. Antioksidan non-enzimatis, dibagi dalam dua kelompok:

1. Antioksidan larut lemak dan larut air, seperti tokoferol, karotenoid, flavonoid, quinolon, dan bilirubin.
2. Antioksidan larut air, seperti asam askorbat, protein pengikat logam.

Antioksidan berdasarkan fungsi dan mekanisme kerjanya dibagi menjadi antioksidan primer, sekunder dan tersier (Berawi, 2018).

### **2.7.1 Antioksidan Primer**

Antioksidan primer meliputi enzim superoksidase dismutase (SOD), katalase dan glutation peroksidase (GSH-Px). Antioksidan primer disebut juga antioksidan enzimatis. Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan primer, apabila dapat memberikan atom hydrogen secara cepat kepada senyawa radikal, kemudian radikal antioksidan yang terbentuk segera berubah menjadi senyawa yang lebih stabil (Bahruddin, 2018).

Antioksidan primer bekerja dengan cara mencegah pembentukan senyawa radikal bebas baru, atau mengubah radikal bebas yang terbentuk menjadi molekul yang kurang reaktif. Sebagai antioksidan, enzim-enzim tersebut menghambat pembentukan radikal bebas, dengan cara memutus reaksi berantai (polimerisasi), kemudian mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil, antioksidan dalam kelompok ini disebut juga dengan *chainbreaking-antioxidant.* Enzim katalaze dan glutation peroksidase bekerja dengan cara mengubah H2O2 menjadi H2O dan O2, sedangkan SOD bekerja dengan cara mengkatalisis reaksi dismutase dari radikal anion peroksidase menjadi H2O2 (Bahruddin, 2018).

### **2.7.2 Antioksidan Sekunder**

Antioksidan sekunder atau disebut juga antioksidan preventif yang bekerja dengan menginaktifkan logam, *scavenge singlet oxygen* dan menstabilkan ROS (Andarina, 2017). Dalam sistem pertahanan ini terbentuk senyawa oksigen reaktif dihambat dengan cara pengkelatan metal, atau dirusak pembentukannya. Pengkelatan metal terjadi dalam cairan ekstraseluler. Antioksidan non-enzimatis dapat berupa komponen non nutrisi dan komponen nutrisi dari sayuran dan buah-buahan. Kerja sistem antioksidan non-enzimatik yaitu dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas atau menangkapnya. Akibtanya radikal bebas tidak dapat bereaksi dengan komponen seluler. Antioksidan sekunder meliputi vitamin C, vitamin E, karotein, flavonoid, asam urat, bilirubin dan albumin (Bahruddin, 2018).

### **2.7.3 Antioksidan Tersier**

Kelompok antioksidan tersier meliputi kelompok DNA repair dan metionin sulfoksida reductase. Enzim- enzim ini berfungsi dalam perbaikan biomolekuler yang rusak akibat rektivitas radikal bebas. Kerusakan DNA yang terinduksi senyawa radikal bebas dicirikan oleh rusaknya *single* dan *double strand*, baik gugus non basa maupun basa. Pada umumnya eksisi basa terjadi melalui pemusnahan basa yang rusak yang dilakukan oleh DNA glikosilase. Selanjutnya hasil glikosilasi pada sisi non-basa diperoses oleh ondonuklease, DNA polimersae dan ligase. Namun hingga saat ini belum ada bukti yang menunjukkan bahwa pada mitokondria dapat dilakukan eksisi basa nukleotida (Bahruddin, 2018).

## **2.8 Metode Pengujian Aktivitas Antioksidan**

### **2.8.1 Medote DPPH**

DPPH (*1,1 diphenyl-2-picrylhydrazyl*) adalah bubuk Kristal berwarna gelap yang terdiri dari molekul radikal bebas yang stabil (Pujiastuti, 2021). Prinsip kerja metode DPPH adalah adanya atom hidrogen dari senyawa antioksidan yang berikatan dengan elektron bebas pada senyawa radikal sehingga menyebabkan perubahan dari radikal bebas (*diphenyl-picrylhydrazyl*) menjadi senyawa non-radikal (*diphenyl-picrylhydrazine*). Hal ini ditandai dengan perubahan warna dari ungu menjadi kuning (Setiawan et al., 2018).

Radikal bebas DPPH yang memiliki elektron tidak berpasangan akan memberikan warna ungu. Warna akan berubah menjadi kuning saat elektronnya berpasangan. Perubahan intensitas warna ungu ini terjadi karena adanya peredaman radikal bebas yang dihasilkan oleh bereaksinya molekul DPPH dengan atom hidrogen yang dilepaskan oleh molekul senyawa sampel sehingga terbentuk senyawa difenil pikril hidrazin dan menyebabkan terjadinya peluruhan warna DPPH dari ungu ke kuning. Perubahan warna ini akan memberikan perubahan absorbansi pada panjang gelombang maksimum DPPH menggunakan spektrofotometer UV-Vis sehingga akan diketahui nilai aktivitas peredaman radikal bebas yang dinyatakan dengan nilai IC50 (*Inhibitory concentration*) (Suena et al, 2020).

Parameter yang digunakan untuk aktivitas antioksidan dengan metode penangkapan radikal DPPH ini adalah IC50. Nilai IC50 yakni konsentrasi senyawa uji yang dapat meredam radikal bebas sebanyak 50%. Semakin kecil nilai IC50 maka aktivitas peredaman radikal bebas semakin tinggi. Nilai IC50 diperoleh dari suatu persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi senyawa uji dengan persen aktivitas antioksidan (Sinala, 2019). Jika nilai IC50 suatu ekstrak berada dibawah 50 ppm, aktivitas antioksidannya sangat kuat, nilai IC50 berada diantara 50-100 ppm, aktivitas antioksidannya kuat, nilai IC50 berada diantara 100-150 ppm, aktivitas antioksidannya sedang, nilai IC50 berada diantara 150-200 ppm, aktivitas antioksidannya lemah, dan nilai IC50 diatas 200 ppm, aktivitas antioksidannya sangat lemah (Zela, 2021).

### **2.8.2 Medote FRAP**

Penetapan aktivitas antioksidan menggunakan metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) pada prinsipnya dapat berjalan dengan baik jika dilakukan pada senyawa antioksidan yang dapat mereduksi *ferri-tripy–ridyl-triazine* (Fe (III)TPTZ) menjadi kompleks *ferro-tripyridyl-triazine* (Fe (II)TPTZ) (Setiawan et al., 2018). Metode ini berdasarkan pada reaksi reduksi dalam suasana asam terhadap senyawa kompleks Fe3+ (Kalium heksasianoferat) yang berwarna kuning menjadi senyawa kompleks Fe2+ yang berwarna hijau kebiruan akibat donor elektron dari senyawa antioksidan. Metode uji aktivitas antioksidan dengan metode FRAP ini dapat dimonitor dengan pengukuran serapan senyawa komplek Fe2+ yang terbentuk dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimal 700 nm (Maesaroh et al., 2018).

### **2.8.3 Medote CUPRAC**

Metode Cuprac (*Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity*) adalah salah satu metode yang digunakan untuk menentukan adanya aktivitas dan mengukur kapasitas antioksidan dari daun yodium terhadap radikal bebas yang absorbansinya diukur pada spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 450 nm (Haeria. et al., 2018). Prinsip dari metode ini yaitu berdasarkan pada kemampuan sampel agen antioksidan 2+ dalam mereduksi kompleks Cu menjadi + komplek Cu yang ditandai dengan perubahan warna biru menjadi kuning pada spot senyawa yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan (Ramadhan et al., 2020).

### **2.8.4 Medote ABTS**

Metode peredaman radikal bebas ABTS (*2,2-azinobis-3-Ethylbenzothiazoline-6-Sulfonic Acid*) merupakan metode pengujian untuk mengukur jumLah radikal bebas yang memiliki sensitivitas yang cukup tinggi, kelebihan ABTS dibandingkan dengan metode lain yaitu pengujiannya yang sederhana, efektif, cepat, dan mudah diulang (Faisal, 2019).

ABTS adalah suatu radikal bebas dengan pusat nitrogen yang mempunyai karakteristik warna biru-hijau yang bila tereduksi oleh antioksidan akan berubah menjadi bentuk non radikal dari bewarna menjadi pudar atau tidak berwarna. ABTS sangat sensitive terhadap cahaya, pembentukan ABTS membutuhkan waktu inkubasi dalam ruang gelap. Uji peredaman radikal bebas ABTS ini dilakukan dengan metode uji perubahan warna pada larutan ABTS dengan ekstrak etanol batang lengkuas. Hasil uji antioksidan dengan metode uji warna adalah positif mengandung antioksidan, karena pada larutan uji terjadi perubahan warna dari biru-hijau menjadi pudar (Tangkau et al., 2023).

Panjang gelombang 750 nm merupakan panjang gelombang maksimum ABTS. Panjang gelombang maksimum akan memberikan serapan paling optimal dari larutan uji dan memberikan kepekaan yang paling besar, sehingga diharapkan dapat diperoleh nilai absorbansi yang optimal pada sampel (Tangkau et al., 2023).

## **2.9 Mekanisme Interaksi Radikal Bebas DPPH Dengan Flavonoid**

Flavonoid adalah salah satu metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antioksidan. Flavonoid adalah senyawa fenol yang memiliki gugus -OH yang terikat pada karbon cincin aromatik. Flavonoid dapat mencegah kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas melalui dua mekanisme yaitu langsung dan tidak langsung. Sebagai antioksidan langsung, flavonoid bekerja dengan mendonorkan ion hidrogen untuk menetralisir efek toksik dari radikal bebas. Sebagai antioksidan tidak langsung, flavonoid mengaktifkan gen-gen tertentu dalam tubuh yang berperan dalam memproduksi antioksidan alami. Salah satu gen yang sering diaktivasi oleh flavonoid adalah *Nuclear Factor Erythoid 2 Related Factor 2* (Nrf2). Ketika Nrf2 diaktifkan, ia merangsang produksi enzim antioksidan seperti *Superoxide Dismutase* (SOD). Enzim SOD ini membantu menetralkan radikal bebas di dalam tubuh (Manurung et al., 2023).

Ketika flavonoid berinteraksi dengan radikal bebas DPPH yang sangat reaktif, flavonoid akan melepaskan ion hidrogen positif (H+). Ion H+ ini kemudian akan berpasangan dengan radikal DPPH, akan membentuk senyawa baru yang lebih stabil yang disibut *Difenil Pikrilhidrazin*. Reaksi tersebut membuat radikal DPPH yang berbahaya dapat dinetralkan. Sementara itu, flavonoid yang telah kehilangan ion H+ akan menjadi radikal baru, namun radikal ini cenderung lebih stabil karena adanya struktur cincin aromatik yang memungkinkan elektron terdelokalisasi (Rahmah et al., 2023). Reaksi radikal bebas DPPH dengan flavonoid dapat dilihat pada Gambar 2.8



**Gambar 2.8** Reaksi DPPH Dengan Flavonoid

## **2.10 Mekanisme Interaksi Radikal Bebas DPPH Dengan Asam Askorbat**

Asam askorbat, juga dikenal sebagai vitamin C, memiliki rumus molekul (C6H8O6) merupakan sebuah senyawa organik berbentuk kristal, memiliki struktur yang rentan terhadap oksidasi. Rantai karbonnya yang tidak stabil membuatnya mudah bereaksi dengan oksigen di udara, membentuk asam dehidroaskorbat (Cahyadi et al., 2018). Sifat asam dan kemampuannya sebagai agen pereduksi yang kuat menjadikan asam askorbat sebagai senyawa pembanding yang ideal dalam uji antioksidan DPPH (Fatmawati et al, 2023).

Mekanisme asam askorbat dalam menetralkan radikal bebas terjadi karena asam askorbat mudah teroksidasi oleh radikal bebas. Asam askorbat memiliki ikatan rangkap dan dua gugus (-OH) yang terikat pada ikatan rangkap tersebut yang disebut gugus enol. Gugus enol ini sangat rentan terhadap serangan radikal bebas karena atom hidrogen pada gugus -OH mudah dicabut. Setelah kehilangan atom hidogen yang menyebabkan atom oksigen yang tadinya terikat pada hidrogen akan memiliki muatan negatif (Rizkayanti et al., 2017).

Muatan negatif ini tidak terpusat pada satu atom saja, melainkan menyebar ke seluruh molekul asam askorbat melalui ikatan rangkap. Proses penyebaran muatan ini disebut resonansi. Delokalisasi muatan negatif ini membuat radikal bebas yang terbentuk pada asam askorbat menjadi lebih stabil yang cenderung kurang reaktif dan tidak berbahaya bagi tubuh (Rizkayanti et al., 2017). Reaksi radikal bebas DPPH dengan asam askorbat dapat dilihat pada Gambar 2.9

**Gambar 2.9** Reaksi DPPH Dengan Asam Askorbat

## **2.11 Sinar Ultraviolet (UV)**

Radiasi UV (Ultraviolet) sinar matahari memiliki panjang gelombang 200-400 nm. Secara umum sinar UV dapat digolongkan menjadi UVA, UVB, dan UVC berdasarkan panjang gelombangnya. Sinar UVA memiliki panjang gelombang antara 320 nm sampai 400 nm, sinar UVB memiliki gelombang 290 nm sampai 320 nm, dan sinar UVC dengan panjang gelombang 200 -280 nm (Dampati et al., 2020).

Radiasi ultraviolet lebih 90% dapat mencapai permukaan bumi serta dapat menembus kulit hingga mencapai lapisan dermis (dalam) kulit. Di sisi lain sinar UVB dengan panjang gelombang (290-320) hanya 5% diantara seluruh UV, sebagian besar diserap oleh lapisan kulit stratum korneum (lapisan terluar) dan hanya sebagian kecil yang menembus bagian atas dermis kulit. Sinar UVC memiliki panjang gelombang (200-290 nm), namun radiasinya tidak mencapai permukaan bumi karena diserap oleh ozon pada atmosfer bumi (Minerva, 2019).

Sinar UVB memiliki kemampuan menimbulkan kulit terbakar (sunburn) lebih besar dari sinar UVA. Sedangkan sinar UVA memiliki kemampuan menembus lapisan kulit lebih dalam dan dapat merusak DNA kulit secara tidak langsung yang dapat menyebabkan terjadinya penuaan (photo aging) kulit. Sinar UVA bersifat stabil sepanjang hari, dapat menembus awan dan kaca, sedangkan sinar UVB terbanyak pada pukul 10.00-14.00 serta dapat diserap kaca dan awan (Minerva, 2019).

Paparan sinar matahari berlebihan menyebabkan reaksi fisiologis pada kulit, seperti keriput, pigmentasi, eritema, tannin (pencoklatan kulit), bahkan kanker kulit. Secara alami, kulit manusia memiliki sistem perlindungan terhadap radiasi matahari melalui proses melanogenesis, yaitu pembentukan melanin dari tirosin. Melanin melindungi kulit dari pengaruh buruk sinar UV, namun produksinya terbatas. Ketika produksi melanin tidak mencukupi, diperlukan perlindungan tambahan seperti tabir surya untuk mencegah efek berbahaya sinar UV (Rahmawati, et al., 2018).

##

## **2.12 Tabir Surya**

Tabir surya merupakan zat yang megandung bahan pelindung kulit terhadap sinar matahari sehingga sinar UV tidak dapat memasuki kulit (mencegah gangguan kulit karena radiasi sinar). Tabir surya dapat melindungi kulit dengan cara menyebarkan sinar matahari atau menyerap energi radiasi matahari yang mengenai kulit, sehingga energi radiasi tersebut tidak langsung mengenai kulit (Pratama, 2015). Bahan dalam tabir surya biasanya disebut dengan filter UV, diantaranya yaitu filter UV organik (kimiawi) dan filter UV anorganik (fisika). Filter organik bekerja dengan cara menyerap radiasi UV dan mengonversinya menjadi panas. Contoh filter UV organik adalah avobenzone dan octyl methoxycinnamate. Filter UV anorganik bekerja dengan memantulkan dan menyebarkan sinar UV. Zinc oxide dan titanium dioxide merupakan filter UV anorganik (Avianka et al., 2022).

Tanpa tabir surya kulit yang terpapar sinar matahari langsung akan bertahan selama 10 menit sebelum kulit menjadi terbakar dan merah, maka pemilihan tabir surya didasarkan atas nilai SPF dikalikan dengan 10 menit yang menunjukkan daya tahan tabir surya dalam melindungi kulit. Misalnya seseorang memakai tabir surya dengan SPF 15 maka tabir surya tersebut dapat melindungi kulit selama 15 x 10 menit = 150 menit atau 2 jam 30 menit dari paparan sinar ultraviolet sebelum kulit menjadi terbakar dan merah (Rahmawati et al., 2018).

## **2.13 *Sun Protection Factor* (SPF)**

Efektifitas dari suatu sediaan tabir surya dapat ditunjukkan salah satunya adalah dengan nilai *Sun Protection Factor* (SPF), yang didefinisikan sebagai jumlah energi UV yang dibutuhkan untuk mencapai *Minimal* *Erythema Dose* (MED) pada kulit yang dilindungi oleh suatu tabir surya, dibagi dengan jumlah energi UV yang dibutuhkan untuk mencapai MED pada kulit yang tidak diberikan perlindungan. MED didefinisikan sebagai jangka waktu terendah atau dosis radiasi sinar UV yang dibutuhkan untuk menyebabkan terjadinya erythema (Pratama, 2015). Semakin tingggi nilai SPF yang diperoleh, maka semakin efektif sediaan tersebut dalam mencegah kulit menjadi terbakar dan terhindar dari kerusakan kulit lainnya (Adhayanti et al., 2019).

Metode pengukuran nilai SPF secara *in vitro* terbagi dalam dua tipe, tipe pertama adalah dengan cara mengukur serapan atau transmisi radiasi UV melalui lapisan produk tabir surya pada plat kuarsa atau biomembran, dan tipe kedua adalah dengan menentukan karakteristik serapan tabir surya menggunakan analisis secara spektrofotometri kemampuan menahan cahaya ultraviolet dari tabir surya dinilai dalam faktor proteksi cahaya *Sun Protection Factor* (SPF) yaitu perbandingan antara dosis minimal untuk menimbulkan eritema pada kulit terolesi tabir surya dengan kulit yang tidak terolesi. Nilai SPF ini berkisar 0 sampai 100, dan kemampuan tabir surya dianggap baik apabila berada di atas 15. Kemampuan tabir surya sebagai berikut, minimal bila SPF antara 2 – 4, sedang bila SPF antara 4-6, ekstra bila SPF antara 6 – 8, maksimal bila SPF antara 8 – 15, ultra bila SPF lebih dari 15 (Mutiara, 2020).

## **2.14 Spektrofotometri UV-Vis**

Spektrofotometri UV-Vis adalah salah satu metode instrumen yang paling sering diterapkan dalam analisis kimia untuk mendeteksi senyawa (padat/cair) berdasarkan absorbansi foton (Irawan, 2019). Spektrofotometri ultaviolet memiliki panjang gelombang 200 – 400 nm dan panjang gelombang *Visible* 400 – 800 nm. Pemilihan kedua panjang gelombang tersebut didasarkan pada keterbacaan absorbansi suatu analit (Ngibad, 2019). Keuntungan utama metode spektrofotometri UV-Vis adalah bahwa metode ini memberikan cara sederhana untuk menetapkan kuantitas zat yang sangat kecil. Selain itu, hasil yang diperoleh cukup akurat, dimana angka yang terbaca langsung dicatat oleh detektor dan tercetak dalam bentuk angka digital maupun grafik yang sudah diregresikan (Sari, 2020).

Spektrofotometri UV-Vis dapat digunakan untuk informasi baik analisis kualitatif maupun analisis kuantitatif. Analisis kualitatif dapat digunakan untuk mengidentifikasi kualitas obat atau metabolitnya. Data yang dihasilkan oleh Spektrofotometri UV-Vis berupa panjang gelombang maksimal, intensitas, efek pH dan pelarut, sedangkan dalam analisis kuantitatif, suatu berkas radiasi dikenakan pada cuplikan (larutan sampel) dan intensitas sinar radiasi yang diteruskan diukur besarnya (Abriyani et al., 2023).

Prinsip kerja spektrofotometer UV-Vis berdasar pada serapan cahaya, dimana atom dan molekul berinteraksi dengan cahaya. Gabungan antara prinsip spektrofotometri Ultraviolet dan visible disebut spektrofotometer Ultraviolet-visible (UV-Vis). Sumber UV dan visible adalah dua sumber sinar yang berbeda yang digunakan pada instrumen ini. Spektrofotometri UV-Vis berdasar pada hukum Lambert-Beer. Jika sinar monokromatik melewati suatu senyawa maka sebagian sinar akan diabsorbsi, sebagian dipantulkan dan sebagian lagi akan dipancarkan. Cermin yang berputar pada bagian dalam spektrofotometer akan membagi sinar dari sumber cahaya menjadi dua (Ahriani et al., 2021). Cahaya yang dilewatkan ini kemudian diterima oleh detector yang kemudian akan menghitung cahaya yang diterima dan mengetahui cahaya yang diserap oleh sampel (Sari, 2020).



**Gambar 2.10** Spektrofotometer UV-Vis (Jami et al., 2021)

Validasi metode merupakan elemen penting dari kontrol kualitas. Validasi adalah konfirmasi melalui pemeriksaan dan penyediaan bukti objektif bahwa persyaratan tertentu untuk penggunaan yang dimaksudkan tertentu terpenuhi. Parameter validasi metode analisis meliputi akurasi, presisi, spesifisitas, batas deteksi *(Limit of Detection)* dan batas kuantifikasi *(Limit of Quantification).*

1. Akurasi: Keakuratan metode ditetapkan sebagai persen perolehan kembali (% recovery).
2. Presisi: Parameter presisi dinyatakan dengan persentase *Relative Standard Deviasion* (% RSD).
3. Linieritas: Pengujian linieritas berdasarkan nilai koefisien korelasi (r) pada persamaan regresi linier kurva (Sahumena et al., 2020).
4. Batas deteksi/limit of detection (LOD) merupakan jumLah analit terkecil dalam suatu sampel yang masih dapat dideteksi yang ditunjukkan adanya respon yang lebih signifikan dibandingkan dengan respon blanko sedangkan batas kuantitasi/limit of quantification (LOQ) adalah jumLah analit terkecil dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama (Ngibad, 2019).

## **2.15 Kulit**

Kulit adalah organ tubuh yang terletak paling luar dan membatasinya dari lingkungan hidup manusia. Luas kulit orang dewasa 1,5 m2 dengan berat kira-kira 15% berat badan. Kulit merupakan organ yang esensial dan vital serta merupakan cermin kesehatan dan kehidupan. Kulit juga sangat kompleks, elastik dan sensitif, bervariasi pada keadaan iklim, umur, ras, dan juga bergantung pada lokasi tubuh. Pembagian kulit secara garis besar tersusun atas tiga lapisan utama, yaitu:

1. Lapisan epidermis, lapisan epidermis terdiri atas: stratum korneum (lapisan tanduk), stratum lusidum, stratum granulosum (lapisan keratohialin), stratum spinosum (stratum malphigi), dan stratum basal.
2. Lapisan dermis, lapisan dermis adalah lapisan di bawah epidermis yang jauh lebih tebal daripada epidermis. Secara garis besar lapisan dermis dibagi menjadi dua, yaitu pars papilare dan pars retikulare.
3. Lapisan subkutis, jaringan subkutis merupakan lapisan yang langsung dibawah dermis. Batas antara jaringan subkutis dan dermis tidak tegas. Ujung-ujung saraf tepi, pembuluh darah. Lapisan subkutis terdiri atas jaringan ikat longgar berisi sel-sel lemak di dalamnya. Lapisan sel-sel lemak berfungsi sebagai cadangan makanan. Di lapisan ini terdapat ujung-ujung saraf tepi, pembuluh darah, dan getah bening (Pratama, 2015).

Stratum korneum merupakan lapisan terluar dari epidermis kulit yang memiliki struktur heterogen dan terdiri atas protein (keratin), lipid, dan air. Komposisi yang unik dari stratum korneum ini menjaga agar sedikit air yang keluar dan juga berperan sebagai barrier kulit (Haque, 2018).



**Gambar 2.11** Struktur Kulit Manusia (Haque, 2018).

Kulit pada manusia mempunyai peranan yang penting, selain fungsi utama yang menjamin kelangsungan hidup juga mempunyai arti lain, yaitu estetika, ras, indikator sistemik, dan sarana komunikasi non-verbal antara individu satu dengan yang lainnya. Fungsi utama kulit adalah proteksi, absorpsi, ekskresi, persepsi, pengaturan suhu tubuh, pembentukan pigmen, pembentukan vitamin D, dan keratinasi (Pratama, 2015).

Kulit memiliki mekanisme pertahanan terhadap efek toksik dari paparan sinar matahari, seperti pengeluaran keringat, pembentukan melanin dan penebalan sel tanduk. Akan tetapi, pada penyinaran yang berlebih sistem perlindungan tersebut tidak mencukupi karena banyak pengaruh lingkungan yang secara cepat atau lambat dapat merusak jaringan kulit. Oleh karena itu, diperlukan perlindungan kulit tambahan dengan dibuat sediaan kosmetika pelindung kulit, yaitu kosmetika tabir surya. Tabir surya merupakan sediaan kosmetik yang digunakan dengan maksud memantulkan atau menyerap sinar UV sehingga dapat mengurangi jumlah radiasi UV yang berbahaya bagi kulit (Putri et al., 2019).

## **2.16 Bedak Tabur**

Kosmetik telah dikenal sejak awal peradaban manusia dan diperlukan oleh semua lapisan masyarakat. Manusia membutuhkan kosmetik dalam berbagai situasi, baik dalam keadaan sehat maupun sakit, bahkan untuk yang sudah meninggal. Oleh karena itu, penggunaan kosmetik lebih luas dibandingkan dengan obat-obatan dan memiliki potensi ekonomi yang besar. Kosmetik kini menjadi bagian dari gaya hidup dan tren teknologi formulasi. Salah satu kosmetik yang populer adalah bedak. (Lau, 2020).

Bedak tabur adalah serbuk ringan untuk penggunaan topikal, dikemas dalam wadah yang bagian atasnya berlubang halus untuk memudahkan penggunaan pada kulit. Serbuk tabur harus nelewati ayakan dengan derajat halus 100 mesh (harus halus, tidak boleh ada butiran-butiran kasar agar tidak menimbulkan iritasi pada bagian yang peka (Lau, 2020). Bedak tabur adalah salah satu sediaan berupa bedak kering yang hampir semua bahan bakunya terbuat dari serbuk bahan bedak. Bedak tabur berfungsi untuk memberikan kesan yang segar dan mengurangi kesan berminyak pada wajah (Rahim et al., 2022).

Bedak (face powder) termasuk kosmetik dekoratif yang ditujukan untuk menyembunyikan kekurangan pada kulit wajah. Selain untuk menutupi kekurangan pada wajah, tujuan pemakaian bedak untuk melindungi wajah dari sinar ultraviolet. Terdapat 2 jenis tipe bedak wajah, yaitu bedak padat (compact powder) dan bedak tabur (loose powder) (Noena, 2022). Jenis kosmetik bedak digunakan untuk pemakaian luar pada kulit wajah dan tubuh (Yuningsih. et al., 2020).

Pada umumnya bedak digunakan untuk berbagai aplikasi, antara lain pada kulit wajah yang terlihat kusam sehingga terlihat lebih berseri, untuk menyamarkan kulit wajah yang berjerawat dan berlubang, untuk menutupi flek-flek hitam pada wajah, menghaluskan, meratakan, mengurangi penampakan garis halus dan pori-pori wajah, dan meratakan warna kulit. Seiring dengan berkembangnya teknologi, fungsi bedak sendiri juga semakin berkembang. Bedak memiliki berbagai fungsi tergantung dari bahan yang digunakan dalam formulasinya (Yuningsih. et al., 2020).

Seiring dengan berkembangnya teknologi, fungsi bedak sendiri juga semakin berkembang. Bedak memiliki berbagai fungsi tergantung dari bahan yang digunakan dalam formulasinya. Pada penelitian ini, produk yang dibuat adalah bedak berjenis *Loose Face Powder*, artinya bedak tabur yang berbentuk bubuk halus. Keistimewaan atau keunggulan dari bedak ini dibandingkan dengan bedak-bedak yang lain adalah adanya aktivitas antioksidan yang dapat diukur dengan nilai SPF sebagai perlindungan dari sinar ultraviolet (Rasydy et al., 2019).

### **2.16.1 Komposisi Bedak Tabur**

1. Talkum

Talkum adalah magnesium silikat hidrat alam, kadang-kadang mengandung sedikit aluminium silikat. Pemerian dari talkum merupakan serbuk hablur, sangat halus licin, dan mudah melekat pada kulit, bebas dari butiran, berwarna putih atau putih kelabu. Kelarutan talkum yaitu tidak larut dalam hampir semua pelarut. Penyimpanan talkum dalam wadah tertutup baik. Penggunaan talkum dalam bedak tabur sebagai bahan tambahan (Depkes RI, 1993).

1. Zink Oksida

Seng oksida mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 100,5% ZnO, dihitung terdapat zat yang telah dipijarkan. Pemeriannya berupa serbuk amorf, sangat halus, berwarna putih atau putih kekuningan, tidak berbau, tidak berasa, lambat laun menyerap karbondioksida dari udara. Penyimpanan dalam wadah tertutup baik. Dapat digunakan sebagai astrigen, pelindung,zat warna putih, penyerap keringat (Depkes RI, 1993).

1. Zink Stearat

Seng stearat adalah senyawa seng dengan campuran asam organik padat yang diperoleh dari lemak, terutama terdiri dari seng strearat dan seng palmitat dalam berbagai perbandingan. Mengandung tidak kurang dari 12,5% dan tidak lebih dari 14,0% ZnO. Pemerian serbuk halus, voluminus, warna putih, bau khas lemah. Kelarutannya praktis tidak larut dalam air dan etanol 95%. Penyimpanan dalam wadah tertutup baik. Dapat digunakan sebagai bahan tambahan (Depkes RI, 1993).

1. Iron oxide

Iron oxide berbentuk bubuk kuning, merah, hitam, atau coklat. Warna tergantung pada ukuran dan bentuk partikel, dan struktur kristal. Iron oxide merupakan senyawa kimia yang tersusun dari besi dan oksigen. Ada enam belas oksida besi dan oksihidroksida yang diketahui, yang paling dikenal adalah karat, suatu bentuk besi (III) oksida. Besi oksida banyak digunakan dalam kosmetik, makanan, dan aplikasi farmasi sebagai pewarna dan peredam UV (Rowe, 2009).

1. Metil Paraben (Nipagin)

Metil paraben atau nipagin berupa serbuk hablur putih, tidak berbau dan tidak berwarna. Mudah larut dalam etanol, eter dan propilen glikol, sedikit larut dalam air. Pada kosmetik nipagin digunakan sebagai pengawet. Pada sediaan topikal konsentrasi yang digunakan adalah 0,02- 0,3% (Depkes RI, 1995).

1. Oleum citrus

Oleum citri atau minyak jeruk berupa cairan, berwarna kuning pucat atau kuning kehijauan, berbau khas; dan rasanya pedas dan agak pahit. Larut dalam 12 bagian etanol 90%, dapat bercampur dengan etanol mutlak. Oleum citri digunakan sebagai pengaroma (Depkes RI, 1979).