

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN KRIM DAN LOSIO
EKSTRAK BIJI KASUMBA TURATE
(*Carthamus tinctorius* L.)**

**JIHAN WASHITA KADIR
N111 07 002**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2012**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN KRIM DAN LOSIO
EKSTRAK BIJI KASUMBA TURATE
(*Carthamus tinctorius* L.)**

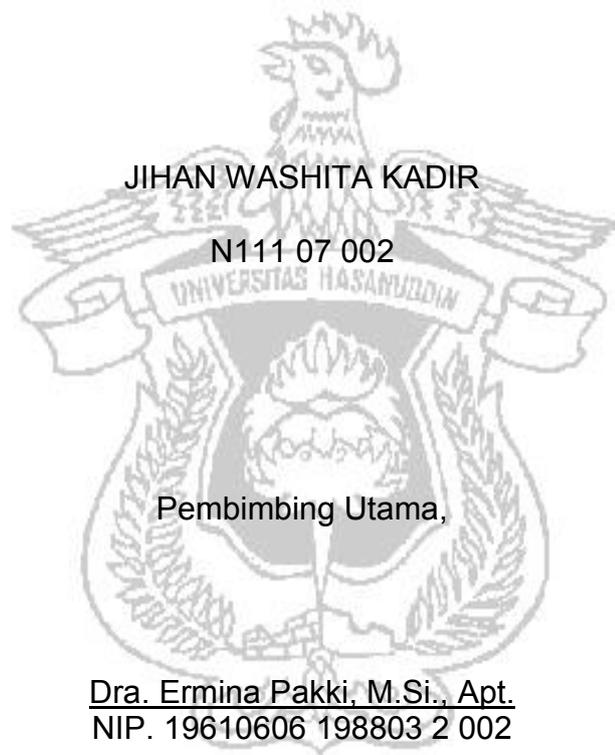
SKRIPSI

**Untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi
syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana**

**JIHAN WASHITA KADIR
N111 07 002**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2012**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN KRIM DAN LOSIO
EKSTRAK BIJI KASUMBA TURATE
(*Carthamus tinctorius* L.)**



Pembimbing Pertama

Pembimbing Kedua

Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt.
NIP. 19641231 199002 1 005

Dra. Rahmawati Syukur, M.Si., Apt.
NIP. 19651010 199203 2 002

Pada tanggal

2012

PENGESAHAN

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN KRIM DAN LOSIO EKSTRAK BIJI
KASUMBA TURATE (*Carthamus tinctorius* L.)

Oleh :

JIHAN WASHITA KADIR
N111 07 002

Dipertahankan Di hadapan Panitia Penguji Skripsi

Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin

Pada tanggal : Mei 2012

Panitia Penguji Skripsi :

- 
1. Prof. Dr. Hj. Asnah Marzuki, M.Si., Apt. :
(Ketua)
 2. Dr. Mufidah, S.Si., M.Si., Apt. :
(Sekretaris)
 3. Dra. Jeanny Wunas, MS., Apt. :
(Anggota)
 4. Dra. Ermina Pakki, M.Si., Apt. :
(Ex. Officio)
 5. Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt. :
(Ex. Officio)
 6. Dra. Rahmawati Syukur, M.Si., Apt. :
(Ex. Officio)

Mengetahui :
Dekan Fakultas Farmasi
Universitas Hasanuddin

Prof. Dr. Elly Wahyudin, DEA., Apt.
NIP. 19560114 198601 2 001

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini adalah karya saya sendiri, tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila dikemudian hari terbukti bahwa pernyataan saya ini tidak benar, maka skripsi dan gelar yang diperoleh, batal demi hukum.

Makassar, Mei 2012
Penyusun

Jihan Washita Kadir

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah Rabbil Alamin, segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas segala karunia dan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi ini, sebagai persyaratan untuk menyelesaikan studi di Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin.

Penulis sadar bahwa selesainya skripsi ini adalah karena adanya doa, bantuan dan motivasi dari berbagai pihak, sehingga rintangan dan hambatan dalam penyusunan skripsi ini dapat terlewati. Untuk itu penulis ingin mengucapkan rasa terima kasih kepada Ibu Dra. Ermina Pakki, M.Si., Apt. selaku pembimbing utama, Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt. selaku pembimbing pertama dan Ibu Dra. Rahmawati Syukur, M.si., Apt. selaku pembimbing kedua, atas bantuan, saran dan kesabaran yang telah diberikan selama membimbing penulis dalam penelitian dan penyusunan skripsi ini.

Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada Prof. Dr. Elly Wahyudin, DEA, Apt., selaku dekan Fakultas Farmasi, Bapak dan ibu dosen Fakultas Farmasi, seluruh staf dan karyawan Fakultas Farmasi yang telah banyak memberikan petunjuk dan bimbingannya kepada penulis, dan terkhusus untuk para laboran Ibu Sumiati, Ibu Adriana Pidun dan Ibu Bety yang setia membantu selama penelitian dilakukan.

Dengan rasa hormat dan penuh cinta penulis haturkan ucapan terima kasih yang tak terhingga kepada orangtua tercinta, bapak Baslin Kadir dan umi Hasna Adam yang telah banyak memberikan dukungan moril maupun materi serta doa yang senantiasa dipanjatkan untuk keberhasilan penulis. Penulis juga menyampaikan ucapan terima kasih yang tulus kepada saudara-saudara tersayang, Djamalia Nur Aini Kadir, Jamaluddin Arfan Rahmat Kadir, Jasman Isman Kadir, Meidy Agustin dan Gerry Akbar yang selalu mendoakan, memberikan curahan kasih sayang dan tak henti-hentinya memberikan semangat. Serta ucapan terima kasih yang terkhusus kepada Ardiansyah untuk doa dan kasih sayang yang diberikan agar penulis selalu semangat dalam melakukan penelitian dan penyusunan skripsi ini.

Tak lupa mereka yang menjadi teman seperjuangan dalam penelitian ini Rezy Ulfayanti dan Indra Marianie Harun yang selalu bersama-sama selama penelitian berlangsung. Kepada teman-teman angkatan 2007 Farmasi UNHAS, teman-teman Angkatan 8 Insan Cendekia di Makassar, atas bantuan, nasehat, dan semangat serta kebersamaanya yang telah diberikan kepada penulis. Dan kepada semua pihak yang telah banyak membantu penulis dalam menuntut ilmu serta dalam penyelesaian skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan dan jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan saran dan kritik yang bersifat membangun untuk menambah wawasan

sehingga dalam penelitian selanjutnya dapat dilakukan dengan lebih baik lagi.

Dengan penuh kerendahan hati, semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan terutama di bidang farmasi, amin.

Makassar, Mei 2012

Penulis

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian uji aktivitas antioksidan krim dan losio ekstrak biji kasumba turate (*Carthamus tinctorius*). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan krim dan losio ekstrak biji kasumba turate menggunakan alat spektrofotometer dengan metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil) pada panjang gelombang 516 nm. Krim ekstrak biji kasumba turate, memiliki nilai konsentrasi penghambatan 50% (IC_{50}) yaitu 10.648,78 $\mu\text{g/ml}$, 10.899,33 $\mu\text{g/ml}$, dan 11,967,41 $\mu\text{g/ml}$ dan losio ekstrak biji kasumba turate, memiliki nilai konsentrasi penghambatan 50% (IC_{50}) masing-masing yaitu 50.839,35 $\mu\text{g/ml}$, 64.491,13 $\mu\text{g/ml}$, dan 65.117,84 $\mu\text{g/ml}$. Hasil penelitian menunjukkan bahwa krim dan losio ekstrak biji kasumba turate memiliki aktivitas antioksidan yang lebih lemah dibandingkan ekstrak biji kasumba turate, nilai IC_{50} pada ekstrak biji kasumba turate yaitu 47,35 $\mu\text{g/ml}$.

ABSTRACT

A research concerning of antioxidant activities test of safflower seed extract (*Carthamus tinctorius*) cream and lotion had been conducted. The aim of this research was to know the antioxidant activities of safflower seed extract in front of cream and lotion using the spectrophotometer with DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl) method at 516 nm wavelength. Safflower seed extract cream 50% inhibitory concentration (IC_{50}) value at 10.648,78 $\mu\text{g/ml}$, 10.899,33 $\mu\text{g/ml}$, and 11,967,41 $\mu\text{g/ml}$, and safflower seed extract lotion 50% inhibitory concentration (IC_{50}) value at 50.839,35 $\mu\text{g/ml}$, 64.491,13 $\mu\text{g/ml}$, and 65.117,84 $\mu\text{g/ml}$. Ultimately, this research showed safflower seed extract cream and lotion weaker antioxidant activities than the safflower seed extract, which 50% inhibitory concentration (IC_{50}) value at 47,35 $\mu\text{g/ml}$.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PERSETUJUAN	iii
LEMBAR PENGESAHAN	iv
LEMBAR PERNYATAAN	v
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vi
ABSTRAK.....	ix
ABSTRACT.....	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
II.1 Uraian Tanaman Kasumba Turate.....	4
II.1.1 Klasifikasi Tanaman.....	4
II.1.2 Nama Lain	4
II.1.3 Morfologi	4
II.1.4 Kandungan Kimia	6
II.1.5 Kegunaan	6
II.2 Ekstraksi	7

II.3	Krim	8
II.4	Losio	8
II.5	Radikal Bebas	9
II.6	Antioksidan	12
II.6.1	Pengertian Antioksidan	12
II.6.2	Sumber Antioksidan.....	13
II.6.3	Klasifikasi Antioksidan	14
II.6.4	Mekanisme Antioksidan	15
II.7	Metode DPPH.....	18
II.8	Metode Spektrofotometer	22
BAB III	Pelaksanaan Penelitian	24
III.1	Alat dan Bahan	24
III.2	Prosedur Kerja.....	24
III.2.1	Pengambilan Biji Kasumba Turate.....	24
III.2.2	Penyiapan Biji Kasumba Turate.....	24
III.2.3	Ekstraksi Biji Kasumba Turate	25
III.2.4	Sediaan Krim dan Losio Ekstrak Biji Kasumba Turate.....	25
III.2.5	Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode Penangkap Radikal Bebas	25
III.2.5.1	Pembuatan Larutan DPPH 0,4 mM	25
III.2.5.2	Penentuan Panjang Gelombang Maksimum (λ_{maks}) DPPH. 25	
III.2.5.3	Pengukuran Aktivitas Blanko	26
III.2.5.4	Pengujian Aktivitas Antioksidan	26

III.3	Pengumpulan dan Analisis Data	26
BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN	27
IV.1	Hasil Penelitian	27
IV.2	Pembahasan.....	29
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN.....	33
V.1	Kesimpulan	33
V.2	Saran	33
	DAFTAR PUSTAKA.....	34
	LAMPIRAN.....	37

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Hasil Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Kasumba Turate	27
Tabel 2. Hasil Pengukuran Aktivitas Antioksidan Krim Ekstrak Biji Kasumba Turate	27
Tabel 3. Hasil Pengukuran Aktivitas Antioksidan Losio Ekstrak Biji Kasumba Turate	28
Tabel 4. Hasil Pengukuran Persentase Penangkapan Radikal Bebas Basis Krim	28
Tabel 5. Hasil Pengukuran Persentase Penangkapan Radikal Bebas Basis Losio	29
Tabel 6. Formula Krim Ekstrak Biji Kasumba Turate menggunakan emulgator Phytocream®	38
Tabel 7. Formula Losio Ekstrak Biji Kasumba Turate menggunakan emulgator Viscolam®	38
Tabel 8. Hasil Pengukuran Penangkapan Radikal Bebas DPPH Ekstrak Biji Kasumba Turate (<i>Carthamus tinctorius</i>)	44
Tabel 9. Hasil Pengukuran Penangkapan Radikal Bebas DPPH Krim (I) Ekstrak Biji Kasumba Turate (<i>Carthamus tinctorius</i>)	45
Tabel 10. Hasil Pengukuran Penangkapan Radikal Bebas DPPH Krim (II) Ekstrak Biji Kasumba Turate (<i>Carthamus tinctorius</i>)	46

Tabel 11. Hasil Pengukuran Penangkapan Radikal Bebas DPPH Krim (III) Ekstrak Biji Kasumba Turate (<i>Carthamus tinctorius</i>)	47
Tabel 12. Hasil Pengukuran Penangkapan Radikal Bebas DPPH Losio (I) Ekstrak Biji Kasumba Turate (<i>Carthamus tinctorius</i>)	48
Tabel 13. Hasil Pengukuran Penangkapan Radikal Bebas DPPH Losio (II) Ekstrak Biji Kasumba Turate (<i>Carthamus tinctorius</i>)	49
Tabel 14. Hasil Pengukuran Penangkapan Radikal Bebas DPPH Losio (III) Ekstrak Biji Kasumba Turate (<i>Carthamus tinctorius</i>).....	50
Tabel 15. Analisis Statistika Secara Gabungan dengan Metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) Persentase Penangkapan radikal bebas Basis Krim dengan dengan α -tokoferol dan tanpa α -tokoferol	53
Tabel 16. Analisis Variansi Pada Basis Krim.....	55
Tabel 17. Analisis Statistika Secara Gabungan dengan Metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) Persentase Penangkapan radikal bebas Basis Losio dengan dengan α -tokoferol dan tanpa α -tokoferol	55
Tabel 18. Analisis Variansi Pada Basis Losio.....	57

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Struktur DPPH	19
Gambar 2. Reaksi Radikal DPPH dengan Antioksidan.....	20
Gambar 3. Resonansi pada Struktur DPPH.....	20
Gambar 4. Histogram Persentase Penangkapan Radikal Bebas Basis Krim	28
Gambar 5. Histogram Persentase Penangkapan Radikal Bebas Basis Losio	29
Gambar 6. Kurva Konsentrasi dan Nilai Probit Ekstrak Biji Kasumba Turate (<i>Carthamus tinctorius</i>)	44
Gambar 7. Kurva Konsentrasi dan Nilai Probit Krim (I) Ekstrak Biji Kasumba Turate (<i>Carthamus tinctorius</i>)	45
Gambar 8. Kurva Konsentrasi dan Nilai Probit Krim (II) Ekstrak Biji Kasumba Turate (<i>Carthamus tinctorius</i>)	46
Gambar 9. Kurva Konsentrasi dan Nilai Probit Krim (III) Ekstrak Biji Kasumba Turate (<i>Carthamus tinctorius</i>)	47
Gambar 10. Kurva Konsentrasi dan Nilai Probit Losio (I) Ekstrak Biji Kasumba Turate (<i>Carthamus tinctorius</i>)	48
Gambar 11. Kurva Konsentrasi dan Nilai Probit Losio (II) Ekstrak Biji Kasumba Turate (<i>Carthamus tinctorius</i>)	49

Gambar 12. Kurva Konsentrasi dan Nilai Probit Losio (III) Ekstrak Biji
Kasumba Turate (*Carthamus tinctorius*) 50

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Kerja Penelitian	37
Lampiran 2. Formula Krim dan Losio Ekstrak Biji Kasumba Turate	38
Lampiran 3. Kurva Hasil Pengukuran Spektrofotometer	39
Lampiran 4. Hasil Pengukuran Penangkapan Radikal Bebas.....	44
Lampiran 5. Perhitungan Nilai IC ₅₀	51
Lampiran 6. Hasil Analisis Sidik Ragam	53

BAB I

LATAR BELAKANG

Radikal bebas merupakan salah satu bentuk senyawa oksigen reaktif, yang secara umum diketahui sebagai senyawa yang memiliki elektron yang tidak berpasangan. Reaksi oksidasi yang terjadi setiap saat dapat mencetus terbentuknya radikal bebas yang sangat aktif, yang dapat merusak struktur serta fungsi sel sehingga menyebabkan peradangan dan penuaan dini. Namun, reaktivitas radikal bebas dapat dihambat oleh sistem antioksidan yang melengkapi sistem kekebalan tubuh (1).

Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (*Electron donor*) atau reduktan. Senyawa ini memiliki berat molekul kecil, tetapi mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi, dengan cara mencegah terbentuknya radikal. Antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Akibatnya, kerusakan sel akan dihambat (1).

Sebagai alternatif untuk bahan antioksidan dapat diperoleh dari bahan alam yaitu antioksidan alami. Antioksidan alami banyak terdapat pada seluruh bagian dari tanaman seperti akar, daun, bunga, biji, batang dan sebagainya. Beberapa makronutrien pada tumbuhan seperti vitamin C, E, asam folat, karotenoid, antosianin dan polifenol memiliki kemampuan menangkap radikal bebas sehingga dapat dijadikan

pengganti konsumsi antioksidan sintetis (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesis reaksi kimia) (2).

Kasumba turate merupakan tanaman dari suku Asteraceae yang dibudidayakan dan digunakan untuk pengobatan. Ekstrak biji kasumba turate mengandung komponen berupa senyawa polifenol dan turunan serotonin. Berdasarkan hasil penelitian Midori dkk., kandungan polifenol yang terdapat pada biji $\pm 0,6 \mu\text{g/g}$ dan lebih tinggi dibandingkan bagian tanaman yang lain seperti daun, batang dan akar. Ekstrak dari biji kasumba turate juga menunjukkan adanya aktivitas antiradikal bebas DPPH (1,1 Difenil-2-pikrilhidrazil) dengan $\text{IC}_{50} \pm 1.7 \mu\text{g/ml}$ (3,4).

Berdasarkan besarnya aktivitas antioksidan pada ekstrak biji kasumba turate, maka ekstrak ini menjadi bahan yang digunakan untuk membuat sediaan kosmetik antioksidan yaitu krim dan losio. Permasalahan yang timbul adalah apakah ekstrak yang diformulasi dalam sediaan krim dan losio memberikan aktivitas antioksidan. Untuk itulah telah dilakukan penelitian tentang pengujian aktivitas antioksidan ekstrak biji kasumba turate (*Carthamus tinctorius* L.) dalam sediaan krim dan losio.

Salah satu uji untuk menentukan aktivitas antioksidan penangkap radikal adalah metode DPPH (1,1 Difenil-2-pikrilhidrazil). Metode DPPH memberikan informasi reaktivitas senyawa yang diuji dengan suatu radikal stabil. 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 (5).

Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui aktivitas antioksidan sediaan krim dan losio dari ekstrak biji kasumba turate (*Carthamus tinctorius* L.).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Uraian Tanaman Kasumba Turate (*Carthamus tinctorius* L.)

II.1.1 Klasifikasi Tanaman (6)

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Super Divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub Kelas	: Asteridae
Ordo	: Asterales
Familia	: Asteraceae
Genus	: <i>Carthamus</i>
Spesies	: <i>Carthamus tinctorius</i> L.

II.1.2 Nama Lain

Jawa	: Kembang pulu
Bugis	: Ralle'

II.1.3 Morfologi

Tegak lurus bercabang banyak, tanaman menahun, tingginya 30-180 cm. Sistem akar terbentuk dengan baik, berwarna coklat kehijauan, akar tebal dan gemuk, menusuk sampai 3 m kedalam tanah, cabang sampingnya tipis mendatar, sebagian besar terdapat diatas 30 cm.

Tangkai berbentuk selinder, padat dengan intisari lunak, berkayu didekat pangkal. Daun tersusun secara spiral dengan ukuran 4-20 cm x 1-5 cm. Tepi daun berduri-bergerigi, berwarna hijau gelap mengkilap dan berbentuk herba ketika masih muda, berubah menjadi keras dan kaku setelah tua. Bagian kepala terletak di ujung berbentuk jambangan besar, panjang sekitar 4 cm dan diameter 2,5-4 cm, hanya mengandung bunga-bunga tunggal (florest). Memiliki banyak kelopak involucral, tersusun spiral, bagian luar membujur dan menyempit diatas bagian dasar, 3-7 cm x 0,5-1,6 cm. Bagian atas seperti daun dan spinescent, tegak atau menyebar, tidak terkatup, dengan rambut panjang pada tepi bawah, berwarna hijau lebih muda daripada daun, bagian bawah terkatup, berwarna putih kehijauan, berambut panjang pada bagian luar, khususnya pada tepi, sedangkan pada bagian dalam glabrous; disekitar bagian tengah kepala, kontriksinya menjadi kurang jelas dan bagian yang seperti daun menjadi tidak nampak; kelopak yang paling dalam berbentuk lanset, 2-2,5 cm x 1-4 mm, ujung spinescent, ciliate. Dasar bunganya rata sampai berbentuk kerucut, banyak, tegak, bebulu putih dengan panjang 1-2 cm dan terdapat 20-80 bunga tunggal (Florest) berkelamin ganda, tubular, aktinomorf, panjangnya sekitar 4 cm glabrous, kebanyakan berwarna jingga kemerahan yang menjadi merah gelap saat mekar, kadang-kadang kuning; mahkotanya tersusun oleh 5 lobus, panjang tubular 18-22 mm, lobus menyebar, sedikit oblongata sampai linier, 7 mm x 1 mm; benang sari 5, epipetalous, tertanam pada bagian mulut, filamen 1-2 mm, anthers

5 mm, berkumpul, membentuk kolom; ovarium berbentuk elips, panjangnya 3,5-4,5 mm, satu sel, satu ovulet, bearing cakram pada bagian atas; penghalang tipis, panjang 28-30 mm, glabrous, mendesak mulut kolom serbuk sari, stigma panjangnya 5 mm, bifidus, kuning, dengan rambut pendek (7).

II.1.4 Kandungan Kimia

Safflower (kasumba) mengandung 2 kelompok besar pigmen yang larut dalam air, yaitu carthamidin kuning dan dye carthamin, yang berwarna orange-merah dan larut dalam larutan alkali. Bunganya mempunyai 0,3-0,6 % carthamin. Flavonoids, glikosida, sterol dan derivat serotonin telah diidentifikasi dari bunga dan biji. Polifenol dan dua turunan serotonin, N-(p-coumaroyl) serotonin dan N-feruloylserotononiin diketahui terdapat pada biji safflower yang dapat berfungsi sebagai antioksidan (7,8).

II.1.5 Kegunaan

Bunga kasumba turate atau safflower dikenal sebagai bahan tambahan kosmetik dan belum digunakan secara luas dalam pengobatan. Di Cina, bunganya digunakan untuk pengobatan pada penyakit seperti penyumbatan pembuluh darah di otak, sterilitas pada laki-laki, rematik dan bronkhitis, dan sebagai teh tonik untuk memperkuat sirkulasi darah dan hati. Pengobatan dengan safflower juga menunjukkan efek yang bermanfaat pada sakit dan pembengkakan karena trauma. Kasumba turate juga biasanya digunakan oleh masyarakat di daerah Sulawesi

Selatan sebagai obat tradisional untuk mengobati penyakit campak (morbili). Biji safflower juga telah digunakan sebagai obat herbal di Korea untuk pengembangan pembentukan tulang dan dalam pengobatan osteoporosis dan rematik (3, 7).

II.2 Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses melarutkan komponen-komponen kimia yang terdapat dalam suatu sampel dengan menggunakan pelarut yang sesuai dengan komponen yang diinginkan. Tujuan ekstraksi adalah untuk menarik komponen yang terdapat dalam bahan alam. Ekstraksi ini didasarkan pada perpindahan massa komponen zat padat ke dalam dan perpindah mulai terjadi pada lapisan antarmuka, kemudian terdifusi masuk ke dalam pelarut (9).

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan.

Infus adalah sediaan cair yang dibuat dengan mengekstraksi simplisia nabati dengan air pada suhu 90° selama 15 menit. Cara pembuatan yakni campur simlisia dengan derajat halus yang sesuai dalam panci dengan air secukupnya, panaskan di atas tangan air selama 15 menit dihitung mulai suhu mencapai 90° sambil sekali-sekali diaduk.

Serkai selagi panas melalui kain flanel, tambahkan air panas secukupnya melalui ampas hingga diperoleh volume infus yang dikehendaki (10).

II.3 Krim

Krim didefinisikan sebagai “cairan kental atau emulsi setengah padat baik bertipe air dalam minyak atau minyak dalam air.” Krim biasanya digunakan sebagai emolien atau pemakaian obat pada kulit. Krim adalah bentuk sediaan setengah padat mengandung satu atau lebih bahan obat terlarut atau terdispersi dalam bahan dasar yang sesuai. Istilah ini secara tradisional telah digunakan untuk sediaan setengah padat yang mempunyai konsistensi relatif cair diformulasi sebagai emulsi air dalam minyak atau minyak dalam air. Sekarang ini, batasan tersebut lebih diarahkan untuk produk yang terdiri dari emulsi minyak dalam air atau dispersi mikrokristal asam-asam lemak atau alkohol berantai panjang dalam air, yang dapat dicuci dengan air dan lebih ditujukan untuk penggunaan kosmetik dan estetika (10,11).

II.4 Losio

Losio adalah sediaan cair berupa suspensi atau dispersi yang digunakan sebagai obat luar. Dapat berbentuk suspensi zat padat dalam serbuk halus dengan bahan pensuspensi yang cocok, atau emulsi tipe minyak dalam air dengan surfaktan yang cocok. Losio merupakan preparat cair yang dimaksudkan untuk pemakaian luar pada kulit. Losio

dimaksudkan untuk digunakan pada kulit sebagai pelindung atau untuk obat karena sifatnya bahan-bahannya. Kecairannya memungkinkan pemakaian yang merata dan cepat pada permukaan kulit yang luas. Losio segera kering pada kulit setelah pemakaian dan meninggalkan lapisan tipis dari komponen obat pada permukaan kulit (11,12).

II.5 Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan salah satu bentuk senyawa oksigen reaktif, yang secara umum diketahui sebagai senyawa yang memiliki elektron yang tidak berpasangan. Reaksi oksidasi yang terjadi setiap saat dapat mencetus terbentuknya radikal bebas yang sangat aktif, yang dapat merusak struktur serta fungsi sel sehingga menyebabkan peradangan dan penuaan dini. Namun, reaktivitas radikal bebas dapat dihambat oleh sistem antioksidan yang melengkapi sistem kekebalan tubuh (1).

Target utama radikal bebas adalah protein, asam lemak tak jenuh, lipoprotein, serta unsur DNA termasuk karbohidrat. Dari ketiga molekul target tersebut, yang paling rentan terhadap serangan radikal bebas adalah asam lemak tak jenuh. Berbagai kemungkinan dapat terjadi sebagai akibat kerja radikal bebas. Misal, gangguan fungsi sel, kerusakan struktur sel, molekul termodifikasi yang tidak dapat dikenali oleh system imun, dan bahkan mutasi. Semua bentuk gangguan tersebut dapat memicu berbagai penyakit (1).

Senyawa radikal bebas timbul akibat berbagai proses kimia kompleks dalam tubuh, metabolisme oksidatif mitokondria, atau ketika tubuh terpapar polusi lingkungan. Sumber radikal bebas bisa berasal dari dalam tubuh kita sendiri (endogen), bisa pula berasal dari luar tubuh (eksogen). Radikal endogen terbentuk sebagai sisa proses metabolisme (proses pembakaran) protein, karbohidrat, dan lemak pada mitokondria, proses inflamasi atau peradangan, reaksi antara besi logam transisi dalam tubuh, fagosit, xantin oksidase, peroksisom, maupun pada kondisi iskemia. Sumber dari luar tubuh terbentuk dari asap rokok, polusi lingkungan, radiasi, obat-obatan, pestisida, anestetik, limbah industri, ozon, serta sinar ultraviolet. Beberapa contoh radikal bebas antara lain : anion superoksida ($2O_2 \bullet^-$), radikal hidroksil ($OH\bullet$), nitril oksida ($NO\bullet$), hidrogen peroksida (H_2O_2) dan sebagainya. Radikal bebas ini memegang peranan esensial misalnya pada regulasi tekanan darah, pencegahan infeksi kuman, dan eliminasi zat-zat asing (18,19).

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, yaitu antara lain:

a. Kerusakan DNA pada inti sel

Senyawa radikal bebas merupakan salah satu faktor penyebab kerusakan DNA dengan mengoksidasi DNA. Jika sel yang mengandung DNA rusak (damaged DNA) membelah sebelum DNA tersebut diperbaiki,

akan mengakibatkan perubahan genetik secara permanen, hal tersebut merupakan langkah pertama dalam karsinogenesis. Oksidasi DNA oleh senyawa radikal bebas dapat menginisiasi terjadinya kanker (19,20).

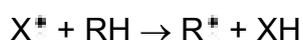
b. Kerusakan Protein

Perubahan LDL (low density lipoprotein) menjadi bentuk LDL teroksidasi yang diperantarai oleh radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan dinding arteri dan kerusakan bagian arteri lainnya. Meningkatnya kadar LDL oleh oksigen reaktif dapat merusak dinding arteri yang menyebabkan aterosklerosis (20).

c. Peroksida lipid

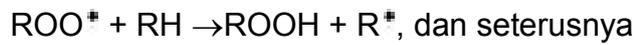
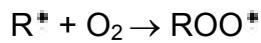
Peroksidasi lipid sebagai akibat dari stress oksidatif yang terjadi melalui tiga tahap merupakan reaksi berantai yang terus menghasilkan pasokan radikal bebas yang dapat merusak jaringan dan dapat menyebabkan penyakit degeneratif seperti kanker penyakit inflamasi, penuaan dan lain-lain. Peroksidasi lipid terjadi melalui tiga tahap reaksi berantai, yaitu :

1) Inisiasi



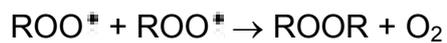
Tahap pembentukan awal radikal-radikal bebas. Pada tahap ini dengan adanya oksigen bebas akan terjadi pengambilan atom H dari *Poly Unsaturated Fatty Acid* (PUFA) yang terdapat pada membran sel sehingga menyebabkan kerusakan pada sel.

2) Propagasi



Propagasi adalah tahap penambahan radikal-radikal baru dalam suatu reaksi rantai. Hasil dari reaksi ini akan menjadi inisiator baru untuk bereaksi dengan PUFA yang lain sehingga menghasilkan produk radikal baru.

3) Terminasi



Terminasi adalah tahap pengubahan radikal bebas menjadi senyawa stabil dan tidak reaktif sehingga dapat mengakhiri daur propagasi radikal bebas. Tahap ini mengkombinasikan dua radikal menjadi suatu produk nonradikal (22).

II.6 Antioksidan

II.6.1 Pengertian Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (*Electron donor*) atau reduktan. Senyawa ini memiliki berat molekul kecil, tetapi mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi, dengan cara mencegah terbentuknya radikal. Antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat

menghambat reaksi oksidasi, dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Akibatnya, kerusakan sel akan dihambat (1).

Ciri utama dari antioksidan adalah kemampuannya memerangkap radikal bebas. Reaksi oksigen dengan bahan – bahan yang ada di dalam sistem biologi seperti oksidasi asam nukleat, protein, lipid atau DNA menyebabkan terbentuknya radikal bebas yang ditandai dengan terjadinya penyakit degeneratif. Senyawa antioksidan seperti asam fenol, polifenol dan flavonoid dapat “merantas” radikal bebas seperti peroksida, hidroperoksida atau peroksil lipid sehingga menghambat mekanisme oksidasi.

II.6.2 Sumber antioksidan

Berdasarkan sumbernya antioksidan dibagi dalam dua kelompok, yaitu antioksidan sintetik (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintetik reaksi kimia) dan antioksidan alami (antioksi dan hasil ekstraksi bahan alami).

a. Antioksidan Sintetik

Ada empat antioksidan sintetik yang penggunaannya meluas dan menyebar di seluruh dunia, yaitu Butil Hidroksi Anisol (BHA), Butil Hidroksi Toluena (BHT), Propil galat, Tert-Butil Hidroksi Quinon (TBHQ).

b. Antioksidan Alami

Antioksidan alami di dalam makanan dapat berasal dari (a) senyawa antioksidan yang sudah ada dari satu atau dua komponen makanan, (b) senyawa antioksidan yang terbentuk dari reaksi-reaksi selama proses

pengolahan, (c) senyawa antioksidan yang diisolasi dari sumber alami dan ditambahkan ke makanan sebagai bahan tambahan pangan. Antioksidan alami banyak terdapat pada seluruh bagian dari tanaman seperti akar, daun, bunga, biji, batang dan sebagainya. Beberapa makronutrien pada tumbuhan seperti vitamin C, E, asam folat, karotenoid, antosianin dan polifenol memiliki kemampuan menangkap radikal bebas (2,26).

II.6.3 Klasifikasi Antioksidan

Secara umum, antioksidan dikelompokkan menjadi 2, yaitu antioksidan enzimatis dan non-enzimatis. Antioksidan enzimatis misalnya enzim superoksida dismutase (SOD), katalase, dan glutathion peroksidase. Antioksidan non-enzimatis masih dibagi dalam 2 kelompok lagi yaitu (a) antioksidan larut lemak, seperti –tokoferol, karotenoid, flavonoid, quinon, dan bilirubin. (b) antioksidan larut air, seperti asam askorbat, asam urat, protein pengikat logam, dan protein pengikat heme (1).

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antioksidan digolongkan menjadi 3 kelompok, yaitu antioksidan primer, sekunder, dan tersier.

a. Antioksidan primer

Antioksidan ini berfungsi untuk mencegah terbentuknya radikal bebas baru karena dapat merubah radikal bebas menjadi molekul yang berkurang dampak negatifnya sebelum sempat bereaksi.

b. Antioksidan sekunder

Antioksidan sekunder merupakan senyawa yang berfungsi menangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya reaksi berantai

sehingga tidak terjadi kerusakan yang lebih besar. Contoh antioksidan sekunder adalah vitamin E, vitamin C, dan betakaroten yang dapat diperoleh dari buah-buahan.

c. Antioksidan tersier

Antioksidan tersier merupakan senyawa yang memperbaiki sel-sel dan jaringan yang rusak karena serangan radikal bebas. Biasanya yang termasuk kelompok ini adalah enzim (1).

II.6.4 Mekanisme Antioksidan

Ada dua prinsip mekanisme aktivitas antioksidan. Yang pertama adalah mekanisme pemutusan rantai, dimana antioksidan primer menjadi donor elektron pada radikal bebas. Mekanisme kedua adalah sebagai antioksidan sekunder dimana katalisator pembentuk rantai radikal seperti reactive oxygen and nitrogen species (ROS/RNS) diredam (23).

Mekanisme aktivitas antioksidan adalah sebagai berikut :

a. Donasi Elektron

Antioksidan primer adalah komponen yang mampu menjadi donor hidrogen dengan cepat kepada radikal lipid membentuk radikal baru yang lebih stabil. Bahan biologis mengandung asam lemak tak jenuh ganda (PUFA), seperti asam linoleat, linolenat dan arachidonat, terutama dalam bentuk ester dengan fosfolipid, trigliserid atau kolesterol. PUFA yang mengalami peroksidasi lipid dapat dicegah oleh antioksidan dengan mendonorkan elektron. Mekanisme peroksidasi lipid yaitu pada tahap pertama atom hidrogen dipisahkan dari PUFA dengan inisiator (seperti

enzim atau dengan reactive oxygen spesies (ROS), seperti hidroksil radikal ($\text{HO}\cdot$), peroksil radikal ($\text{ROO}\cdot$), alkoksil radikal ($\text{RO}\cdot$) atau alkil radikal ($\text{R}\cdot$) yang dihasilkan dari sistem biologi. Inisiator memisahkan atom hidrogen dari posisi alilik asam lemak (posisi paling labil), dan diikuti dengan isomerisasi yang cepat satu atau ikatan ganda menjadi bentuk trans.

Dengan adanya molekul oksigen (O_2), reaksi yang cepat bisa mengambil tempat diantara radikal alkil asam lemak dan molekul oksigen, membentuk peroksil radikal yang kemudian dapat memisahkan atom hidrogen dari asam lemak baru menjadi bentuk hidroperoksida asam lemak dan radikal asam lemak baru. Dua reaksi terakhir diketahui sebagai tahap propagasi pada peroksidasi lipid dan menyebabkan reaksi berantai.

Antioksidan primer seperti flavonoid, tokoferol dan asam askorbat dapat menghentikan reaksi berantai dengan mendonorkan elektron pada peroksil radikal asam lemak, sehingga menghentikan tahap propagasi. Enzim seperti glutathione peroxidase (GPx) dapat juga berperan sebagai antioksidan dengan mengurangi oksidasi lipid dan hidroperoksida fosfolipid (ROOH dan PL-OOH). Berbagai komponen yang dapat bereaksi dengan initiating radical (atau menghambat initiating enzyme), atau mengurangi kadar oksigen (tanpa menghasilkan jenis radikal yang reaktif), dapat berperan sebagai antioksidan sekunder.

b. Pengkhelat Logam

Antioksidan sekunder dapat mengurangi kecepatan reaksi inisiasi radikal yang disebut sebagai inisiator eliminasi. Hal ini dapat dipenuhi dengan deaktivasi energi tinggi (misalnya : singlet oxygen), absorpsi sinar UV, "oxygen scavenging" (merantas oksigen) sehingga kadar oksigen berkurang, mengikat logam yang mengkatalisis reaksi radikal bebas, atau dengan menghambat peroksidase, seperti NADPH oksidase, xanthine oxidase, dopamine- β -hydroxylase atau lipoxygenase.

Kemampuan antioksidan untuk mengikat ion logam transisi dapat diketahui dengan spektroskopi. Protein dengan molekul tinggi yang terikat secara langsung atau tidak langsung pada logam aktif redoks dapat menghambat produksi radikal bebas yang dikatalisis oleh logam. Beberapa komponen dengan molekul yang rendah, seperti polifenol, ditambahkan karena kemampuannya memberi donor atom hidrogen dengan mekanisme memutus rantai pembentuk radikal, selain itu bias juga mengikat ion logamtransisi sehingga menghambat pembentukan radikal bebas. Cara yang sederhana tapi cukup akurat untuk melihat aktivitas antioksidan adalah mereaksikan antioksidan dengan 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) atau dengan galvinoxyl. Prinsip dari metode ini bahwa dengan adanya molekul yang terdiri dari radikal bebas yang stabil (DPPH), antioksidan dengan kemampuannya sebagai donor atom hidrogen akan meredam radikal bebas yang stabil tersebut, proses tersebut diketahui dengan adanya perubahan absorpsi dengan

spektroskopi. Metode ini dapat digunakan pada antioksidan dalam bentuk murninya atau campuran (misalnya ekstraksi dari bahan biologis). Metode ini memungkinkan untuk mengikuti kinetika dari reaksi, jumlah elektron dari molekul antioksidan yang didonorkan, dan juga untuk memperkirakan struktur antioksidan teroksidasi setelah didonasi oleh atom hidrogen.

c. Ko - antioksidan

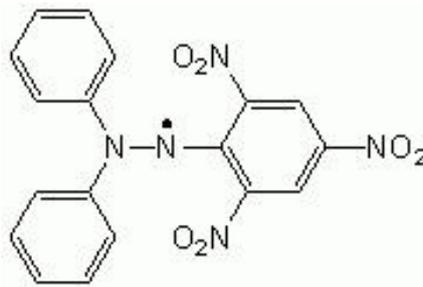
Asam askorbat (vitamin C) mempunyai efek yang kecil dalam mencegah oksidasi lemak babi, kombinasi asam askorbat dengan tokoferol (α -TOH) meningkatkan kekuatan sinergis efek antioksidan. Peran vitamin C adalah mencegah kerusakan α -TOH, sifat asam askorbat ini disebut dengan istilah ko – antioksidan (23).

II.7 Metode DPPH

Banyak metode untuk mengukur aktivitas antioksidan untuk melihat dan membandingkan aktivitas antioksidan pada bahan pangan. Radikal bebas yang umumnya digunakan sebagai model dalam penelitian antioksidan atau peredam radikal bebas adalah 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) (Gambar 1). Metode DPPH merupakan metode yang sederhana, cepat, dan mudah untuk penapisan aktivitas penangkap radikal beberapa senyawa selain itu metode ini terbukti akurat dan praktis (24).

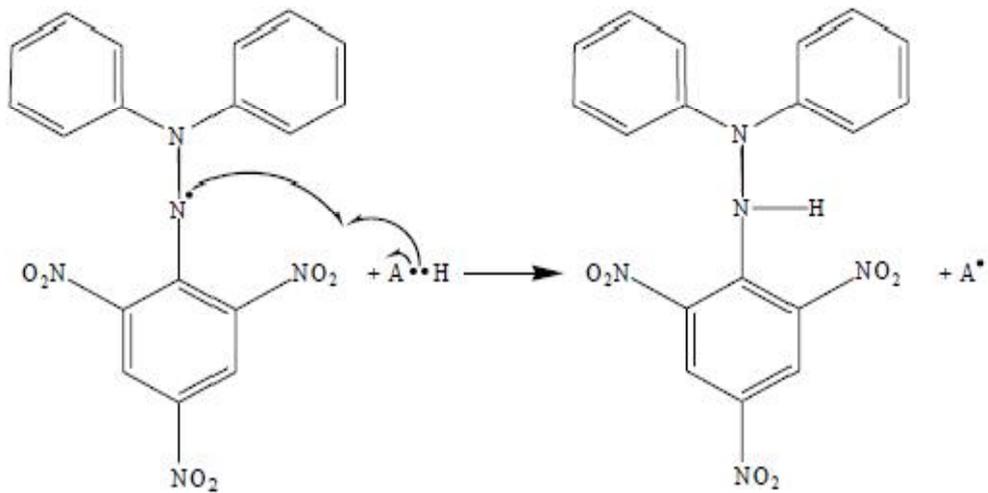
.DPPH banyak digunakan untuk menguji kemampuan senyawa antioksidan dalam merantas radikal bebas atau donor hidrogen dan untuk menilai aktivitas antioksidan dalam bahan pangan. Metode DPPH dapat

digunakan pada sampel padat maupun cair dan tidak untuk mengukur senyawa spesifik antioksidan, tetapi diaplikasikan untuk menduga kapasitas antioksidan total. Sehingga dengan mengukur kapasitas total antioksidan dapat diketahui sifat fungsional dari bahan pangan (25).

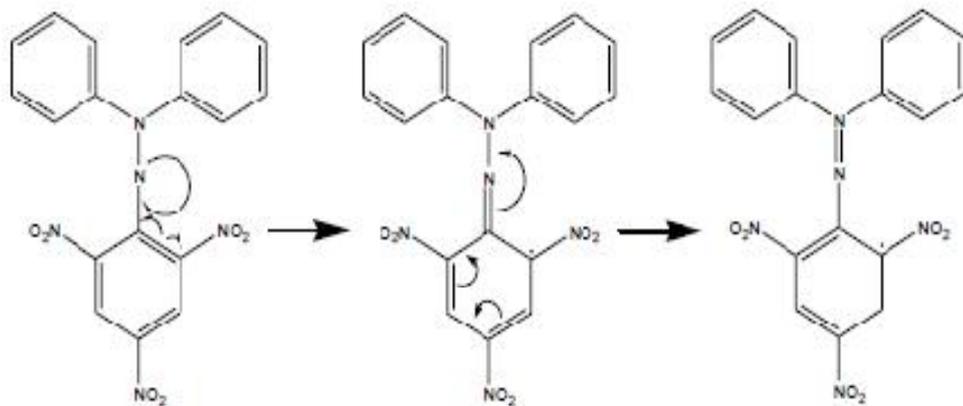


Gambar 1. Struktur DPPH (Sumber Kikuzaki H, Hisamoto M, Hirose K, Akiyama K. dan Taniguchi H. Antioxidant Properties of Ferulic Acid and Its Related Compounds, *J. Agric. Food Chem.* 2001;50. Hal. 2161-2168).

Radikal DPPH adalah suatu senyawa organik yang mengandung nitrogen tidak stabil dengan absorbansi kuat pada λ_{max} 517 nm dan berwarna ungu gelap. Setelah bereaksi dengan senyawa antioksidan, DPPH tersebut akan tereduksi (Gambar 2) 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 DDPH. Hal ini dapat terjadi apabila adanya penangkapan satu elektron oleh zat antioksidan, menyebabkan tidak adanya kesempatan elektron tersebut untuk beresonansi (Gambar 3) Melalui metode DPPH ini dapat ditentukan harga IC50 (konsentrasi yang efektif untuk menghambat 50% dari jumlah DPPH) yang diambil dari grafik regresi liniernya (24).



Gambar 2. Reaksi Radikal DPPH dengan Antioksidan (Sumber Kikuzaki H, Hisamoto M, Hirose K, Akiyama K. dan Taniguchi H. Antioxidant Properties of Ferulic Acid and Its Related Compounds, *J. Agric. Food Chem.* 2001;50. Hal. 2161-2168).



Gambar 3. Resonansi pada Struktur DPPH (Sumber Kikuzaki H, Hisamoto M, Hirose K, Akiyama K. dan Taniguchi H. Antioxidant Properties of Ferulic Acid and Its Related Compounds, *J. Agric. Food Chem.* 2001;50. Hal. 2161-2168).

Sebagai akibatnya maka penambahan senyawa yang bereaksi sebagai antiradikal/antioksidan akan menurunkan konsentrasi DPPH dan menyebabkan penurunan absorbansinya dibandingkan dengan absorbansi kontrol yang tidak diberi dengan senyawa uji yang diduga

mempunyai aktivitas antiradikal. Besarnya persentase penangkapan radikal bebas dihitung dengan rumus :

$$\text{Penangkapan radikal bebas} = \frac{\text{Absorban blanko} - \text{Absorban Sampel}}{\text{Absorban Blanko}} \times 100\%$$

Nilai IC₅₀ (50% Inhibitory Concentration) ditentukan dengan analisis probit dari data log konsentrasi dengan probit persentase penangkapan radikal bebas.

Metode lain yang dapat mengukur potensi penangkap radikal antara lain: (26)

a. Pengujian aktivitas antioksidan dengan sistem linoleat-tiosianat

Asam linoleat merupakan asam lemak tak jenuh dengan 2 buah ikatan rangkap yang mudah mengalami oksidasi membentuk peroksida. Peroksida ini selanjutnya mengoksidasi ion fero menjadi ion feri yang kemudian bereaksi dengan ammonium tiosianat membentuk kompleks feri tiosianat (Fe(SCN)₃) yang berwarna merah. Intensitas warna merah ini diukur absorbansinya pada panjang gelombang 490 nm. Semakin intens warna merahnya menunjukkan bahwa semakin banyak peroksida yang terbentuk.

b. Pengujian dengan asam tiobarbiturat (TBA)

Pengujian ini berdasarkan adanya malonaldehid yang terbentuk dan asam lemak bebas tak jenuh dengan paling sedikit mempunyai 3 ikatan rangkap dua. Malonaldehid selanjutnya bereaksi dengan asam tiobarbiturat membentuk produk kromogen yang berwarna merah yang dapat diukur pada panjang gelombang 532 nm.

c. Pengujian dengan sistem β -karoten-linoleat

Pengujian ini dilakukan dengan mengamati kecepatan terjadinya pemucatan warna β -karoten. Selain ini juga dilakukan dengan bilangan pengujian peroksida, pengujian dengan bilangan para-anisidin dan pengujian dengan bilangan oktanoat.

II.8 Metode Spektrofotometer

Metode yang digunakan untuk mengukur nilai absorban pada penelitian ini adalah metode spektrofotometer. Adapun prinsip kerja dari metode ini adalah pengukuran absorban yang diakibatkan adanya penyerapan sinar oleh bahan yang dianalisis pada panjang gelombang tertentu. Jika suatu radiasi elektromagnetik menimpa suatu materi dan pada materi tersebut terjadi absorpsi selektif, materi akan menyerap komponen radiasi pada panjang gelombang yang berbeda dan dalam jumlah yang berbeda pula.

Spektrofotometer UV-visibel merupakan teknik spektroskopik yang memakai sumber radiasi elektromagnetik ultra violet dekat (190-380 nm) dan sinar tampak (380-780 nm) dengan memakai instrumen spektrofotometer. Distribusi elektron didalam suatu senyawa organik secara umum yang dikenal sebagai orbital elektron pi (π), sigma (σ) dan elektron tidak berpasangan (n). Apabila pada molekul dikenakan radiasi elektromagnetik maka akan terjadi ekstasi elektron ke tingkat energi yang lebih tinggi yang dikenal sebagai orbital elektro anti bonding (29).

Penyerapan spektrofotometri UV-vis pada senyawa organik didasarkan pada transisi $n \rightarrow n^*$ ataupun $\pi \rightarrow \pi^*$. Transisi ini terjadi dalam daerah spektrum sekitar 200 ke 700 nm yang digunakan dalam eksperimen dan karenanya memerlukan gugus kromofor dalam molekul itu. Kromofor merupakan gugus tak jenuh kovalen yang dapat menyerap radiasi dalam daerah-daerah UV dan vis, pada senyawa organik dikenal pula gugus aoksokrom yaitu gugus jenuh yang terikat pada kromofor. Terikatnya gugus aoksokrom pada kromofor dapat mengubah panjang gelombang dan intensitas serapan maksimum (30).