

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

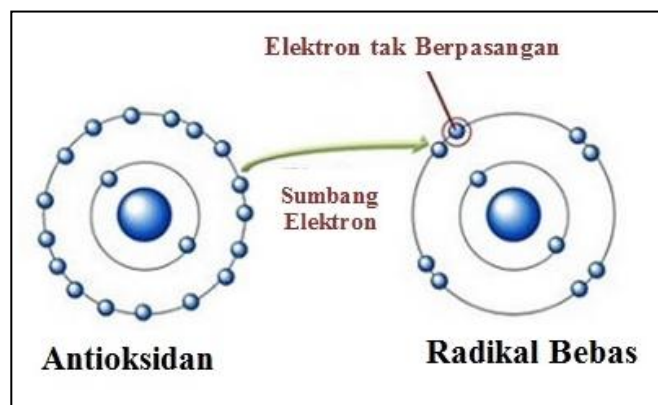
A. Radiasi Ultraviolet Dan Fotoprotektif

Ultraviolet merupakan suatu bagian dari spektrum elektromagnetik dan tidak membutuhkan medium untuk merambat. Ultraviolet mempunyai rentang panjang gelombang antara 100-400 nm yang berada di antara spektrum sinar X dan cahaya tampak (USEPA, 1999). Menurut Dutra dkk., (2004) spektrum elektromagnetik pada area UV terbagi menjadi 3 pita yaitu; ultraviolet A (UVA: 315-400 nm); ultraviolet B (UVB: 280-315 nm) dan ultraviolet C (UVC: 100-280 nm).

Radiasi sinar UV matahari pada sel hidup dapat menyebabkan berbagai resiko fotokimiawi seperti, fotoisomerisasi, dan fotooksidasi. Reaksi fotooksidasi terjadi akibat pelepasan (ROS) berupa : anion superoksida (O_2^*), hidrogen peroksida (H_2O_2) dan radikal hidroksil (OH^*) oleh kromofor yang menyerap sinar ultraviolet (Kochegar, 1995). Reaksi kulit terhadap radiasi sinar UV di antaranya adalah terbentuknya radikal bebas (O_2^* dan OH^*), dan kematian sel secara langsung. Pengaruh patobiologik sinar ultraviolet (UV-A dan UV-B) menghasilkan radikal bebas dan menimbulkan kerusakan pada DNA, radikal bebas inilah merupakan faktor utama yang mempercepat proses penuaan dini (Backman, 1988).

B. Radikal Bebas

Radikal bebas adalah suatu senyawa atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital luarnya (Soematmaji, 1998). Adanya elektron yang tidak berpasangan menyebabkan senyawa tersebut sangat reaktif mencari pasangan, dengan cara menyerang dan mengikat elektron molekul yang berada di sekitarnya. Radikal bebas tersebut dapat mengoksidasi asam nukleat, protein, lemak, bahkan DNA sel dan menginisiasi timbulnya penyakit degeneratif (Leong dan Shui, 2001). radikal bebas memerlukan elektron yang berasal dari pasangan elektron di sekitarnya, sehingga terjadi perpindahan elektron dari molekul donor ke molekul radikal untuk menjadikan radikal tersebut stabil (Simanjuntak dkk., 2004).



Gambar 1. Antioksidan menetralkan radikal bebas (Fessenden, 1982)

Secara umum sumber radikal bebas dapat dibedakan menjadi dua, yaitu endogen dan eksogen. Radikal bebas endogen dapat terbentuk melalui autooksidasi, oksidasi enzimatik, fagositosis dalam respirasi, transport elektron

di mitokondria dan oksidasi ion-ion logam transisi. Sedangkan radikal bebas eksogen berasal dari luar sistem tubuh, misalnya melalui paparan sinar UV (Supari, 1996).

Secara umum, tahapan reaksi pembentukan reaksi radikal bebas melalui tiga tahapan reaksi yaitu inisiasi, propagasi dan terminasi. Tahap inisiasi merupakan awal pembentukan radikal bebas, tahap propagasi merupakan pemanjangan rantai dan tahap terminasi merupakan bereaksinya senyawa radikal dengan radikal lain atau dengan penangkap radikal sehingga potensi propagasinya rendah (Winarsi, 2007).

C. Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa kimia yang dapat menyumbangkan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas, sehingga reaksi radikal bebas tersebut dapat terhambat dan mencegah terbentuknya radikal bebas baru (Winarsi, 2007). Senyawa antioksidan dapat berfungsi sebagai penangkap radikal bebas, pembentuk kompleks dengan logam-logam prooksidan dan berfungsi sebagai senyawa pereduksi (Andlauer dan Furst, 1998). Antioksidan dapat menangkap radikal bebas sehingga menghambat mekanisme oksidatif yang merupakan penyebab penyakit-penyakit degeneratif seperti penyakit jantung, kanker, katarak, disfungsi otak dan arthritis (Miller dkk., 2000)

Inhibitor radikal bebas adalah suatu senyawa yang dapat bereaksi dengan radikal bebas reaktif membentuk radikal bebas yang tidak reaktif dan bersifat relatif stabil. Suatu inhibitor yang berperan dalam menghambat auto-oksidasi atau oksidasi oleh udara disebut dengan antioksidan. Senyawa antioksidan

tersebut dapat melawan radikal bebas karena memiliki gugus-gugus fenol atau gugus –OH yang terikat pada karbon cincin aromatik. Disamping itu, radikal bebas yang terbentuk pada tahap propagasi dari senyawa antioksidan akan terstabilkan secara resonansi sehingga menjadi radikal bebas yang tidak reaktif (Fessenden, 1986).

D. Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*)

Buah naga termasuk dalam kelompok tanaman kaktus atau famili *Cactaceae* dan Subfamili *Hylocereanea*. Adapun klasifikasi buah naga tersebut adalah :

Divisi : *Spermatophyta*

Subdivisi : *Angiospermae*

Kelas : *Dicotyledonae*

Ordo : *Cactales*

Famili : *Cactaceae*

Subfamili : *Hylocereanea*

Genus : *Hylocereus*

Spesies : *Hylocereus polyrhizus* (Buah naga merah)



Gambar 2. Buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) (Rukmana, 2003)

Buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) yang berasal dari Meksiko, Amerika tengah dan Amerika selatan bagian utara ini sudah lama dimanfaatkan buahnya untuk dikonsumsi. Secara morfologi tanaman ini termasuk tanaman tidak lengkap karena tidak memiliki daun akan tetapi memiliki akar, batang dan cabang, bunga, buah serta biji. (Kristanto, 2009).

Buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) mengandung berbagai senyawa bioaktif seperti asam stearat, asam oleat, campesterol, stigmasterol, asam asetat, betanin, isobetanin, fenolik, dan flavonoid (Foong dkk., 2012). Asam stearat, asam oleat, serta fitosterol dapat digunakan untuk mengurangi konsentrasi LDL-kolesterol dan menghambat penyerapan kolesterol (Foong dkk., 2012; Isabelle dkk., 2009). Kandungan tujuh betacyanin pada buah naga merah (betanin, isobetanin, betanidin, isobetanidin, phyllocactin, isophyllocactin, dan bougainvillein-R-I) dapat menjadi pewarna alami, antioksidan, dan untuk menurunkan kolesterol (Foong dkk., 2012).

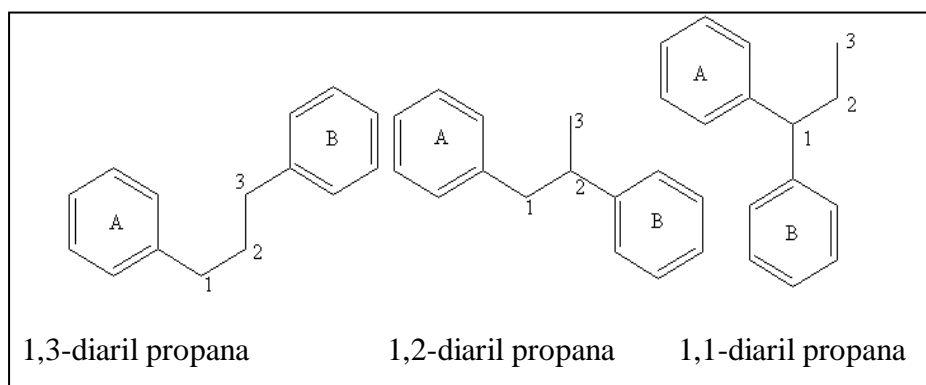
Senyawa fenolik seperti flavonoid juga bersifat sebagai antioksidan sehingga berpotensi untuk mengurangi risiko penyakit seperti penyakit jantung koroner dan kanker. Selain bersifat sebagai antioksidan, flavonoid juga bersifat sebagai penghambat enzim dan mempunyai efek terhadap bakteri (Foong dkk., 2012). Kulit buah naga merah juga mengandung beberapa senyawa seperti triterpenoid, betasianin, alkaloid, steroid, dan flavonoid (flavon dan flavonol) (Pranata, 2013; Budilaksono dkk., 2014).

Nurliyana dkk., (2010) juga menyatakan bahwa daya antioksidan (nilai IC_{50}) tertinggi terdapat di kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*),

diikuti kulit buah naga putih (*Hylocereus undatus*), daging buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dan daging buah naga putih (*Hylocereus undatus*). Total fenolik tertinggi terdapat di kulit buah naga putih (*Hylocereus undatus*), diikuti kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*), daging buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dan daging buah naga putih (*Hylocereus undatus*).

E. Flavonoid

Flavonoid merupakan golongan senyawa fenol terbesar di mana strukturnya terdiri dari C6-C3-C6 dan sering ditemukan di berbagai macam tumbuhan dalam bentuk glikosida atau gugusan gula bersenyawa pada satu atau lebih grup hidroksil fenolik (Sirait, 2007). Flavonoid merupakan golongan metabolit sekunder yang disintesis dari asam piruvat melalui metabolisme asam amino (Bhat dkk., 2009). Flavonoid adalah senyawa fenol, yang warnanya berubah bila ditambah basa atau amoniak. Terdapat sekitar 10 jenis flavonoid yaitu antosianin, proantosianidin, flavonol, flavon, glikoflavon, biflavonil, khalkon, auron, flavanon, dan isoflavon (Harborne, 1987).



Gambar 3. Struktur dasar senyawa flavonoid (Lenny, 2006)

Senyawa-senyawa flavonoid terdiri dari beberapa jenis tergantung pada tingkat oksidasi rantai propana dari sistem 1,3-diaril propana. Flavon, flavonol dan antosianidin adalah jenis yang banyak ditemukan di alam sehingga sering disebut sebagai flavonoid utama (Lenny, 2006). Perlu diperhatikan bahwa cincin A selalu memiliki gugus hidroksil yang letaknya sedemikian hingga memberikan kemungkinan untuk terbentuknya cincin heterosiklis dalam senyawa trisiklis. Flavonoid dapat digolongkan sebagai fenol karena biasanya cincin A dan B mengandung gugus hidroksil (Sastrohamidjojo, 1996).

F. Maserasi dan Ekstraksi cair-cair

Maserasi merupakan proses perendaman sampel dengan pelarut yang digunakan, pada temperatur ruangan. Pemilihan pelarut untuk proses maserasi akan memberikan efektifitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam terhadap pelarut tersebut (Lenny, 2006).

Ekstraksi merupakan proses penarikan atau pemisahan komponen atau zat aktif suatu simplisia dengan menggunakan pelarut tertentu. Proses ekstraksi bertujuan untuk mendapatkan komponen-komponen bioaktif suatu bahan (Harborne, 1987). Ada beberapa metode umum ekstraksi yang sering dilakukan, yaitu ekstraksi dengan pelarut maserasi, destilasi, *supercritical fluid extraction* (SFE), pengepresan mekanik dan sublimasi. Destilasi dan ekstraksi dengan pelarut merupakan metode ekstraksi yang sering digunakan (Gritter dkk., 1991).

Ekstraksi dengan pelarut didasarkan pada sifat kepolaran zat dalam pelarut saat ekstraksi. Senyawa polar hanya akan larut pada pelarut polar, seperti etanol, metanol, dan air. Senyawa non-polar juga hanya akan larut pada pelarut

non-polar, seperti eter, kloroform dan n-heksana (Gritter dkk., 1991). Jenis dan mutu pelarut yang digunakan menentukan keberhasilan proses ekstraksi. Pelarut yang digunakan harus dapat melarutkan zat yang diinginkannya, mempunyai titik didih yang rendah, murah, tidak toksik dan mudah terbakar (Harborne, 1987).

Ekstraksi cair-cair (corong pisah) merupakan pemisahan komponen kimia diantara dua fase pelarut yang tidak saling bercampur di mana sebagian komponen larut pada fase pertama dan sebagian larut pada fase kedua, lalu kedua fase yang mengandung zat terdispersi dikocok, lalu didiamkan sampai terjadi pemisahan sempurna dan terbentuk dua lapisan fase cair, dan komponen kimia akan terpisah ke dalam kedua fase tersebut sesuai dengan tingkat kepolarannya dengan perbandingan konsentrasi yang tetap (Harborne, 1987).

G. Spektrofotometri UV/Vis

Spektrofotometer UV-Vis bermanfaat untuk penentuan konsentrasi senyawa-senyawa yang dapat menyerap radiasi pada daerah ultraviolet (200-400 nm) atau daerah sinar tampak (400-750 nm). Biasanya cahaya terlihat merupakan campuran dari cahaya yang mempunyai berbagai panjang gelombang (λ), dari 400-750 nm (tabel 1).

Tabel. 1 Warna dan panjang gelombang (Day, 1998)

| Panjang gelombang (nm) | Warna | Warna komplementer |
|------------------------|--------|--------------------|
| 400 – 435 | Violet | Kuning – hijau |

| | | |
|-----------|----------------|--------------|
| 435 – 480 | Biru | Kuning |
| 480 – 490 | Hijau – biru | Oranye |
| 490 – 500 | Biru – hijau | Merah |
| 500 – 560 | Hijau | Ungu |
| 560 – 580 | Kuning – hijau | Violet |
| 580 – 595 | Kuning | Biru |
| 595 – 610 | Oranye | Hijau – biru |
| 610 – 750 | Merah | Biru – hijau |

Prinsip penentuan spektrofotometer UV-Vis adalah aplikasi dari Hukum Lambert-Beer, yakni dengan penentuan absorbansi dari larutan sampel yang diukur dengan persamaan penentuan nilai absorbansi (Fessenden, 1982).

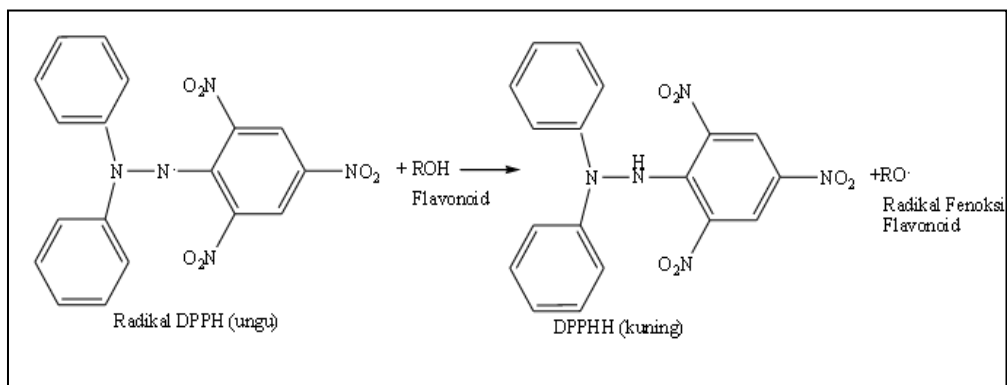
Bila cahaya jatuh pada senyawa maka sebagian dari cahaya diserap oleh molekul-molekul sesuai dengan struktur dari molekul. Setiap senyawa mempunyai tingkatan tenaga yang spesifik. Bila cahaya yang mempunyai tenaga yang sama dengan perbedaan tenaga tereksitasi jatuh pada senyawa, maka elektron-elektron pada tingkatan dasar akan dieksitasi kemudian tenaga cahaya yang sesuai dengan panjang gelombang ini diserap. Elektron yang tereksitasikan melepaskan tenaga dengan proses radiasi panas dan kembali ke tingkatan dasar asal. Karena perbedaan tenaga antara tingkat dasar dan tingkat tereksitasi spesifik untuk tiap-tiap bahan atau senyawa, maka frekuensi yang diserap juga tertentu. Jika foton yang mengenai cuplikan memiliki tenaga yang sama dengan yang dibutuhkan untuk menyebabkan terjadinya perubahan tenaga, maka serapan dapat terjadi. Kekuatan radiasi juga diturunkan dengan adanya penghamburan dan pemantulan, namun demikian pengurangan-

pengurangan ini sangat kecil bila dibandingkan dengan serapan (Sastrohamidjojo, 2001).

H. Uji Antioksidan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)

Salah satu metode yang paling umum digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan adalah dengan menggunakan radikal bebas 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). Pengukuran antioksidan dengan metode DPPH merupakan metode pengukuran antioksidan yang sederhana, cepat dan tidak membutuhkan banyak reagen seperti halnya metode lain. Hasil pengukuran dengan metode DPPH menunjukkan kemampuan antioksidan sampel secara umum, tidak berdasar jenis radikal yang dihambat (Juniarti dkk., 2009). Pada metode lain selain DPPH seperti FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) dan CUPRAC (*Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity*) membutuhkan reagen kimia yang cukup banyak, waktu analisis yang lama, biaya yang mahal dan tidak selalu dapat diaplikasikan pada semua sampel (Badarinath, dkk., 2010).

Pada metode ini, larutan DPPH berperan sebagai radikal bebas yang akan bereaksi dengan senyawa antioksidan sehingga DPPH akan berubah menjadi 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil yang bersifat non-radikal. Peningkatan jumlah 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil akan ditandai dengan berubahnya warna ungu tua menjadi warna merah muda atau kuning pucat dan dapat diamati menggunakan spektrofotometer sehingga aktivitas peredaman radikal bebas oleh sampel dapat ditentukan (Molyneux, 2004).



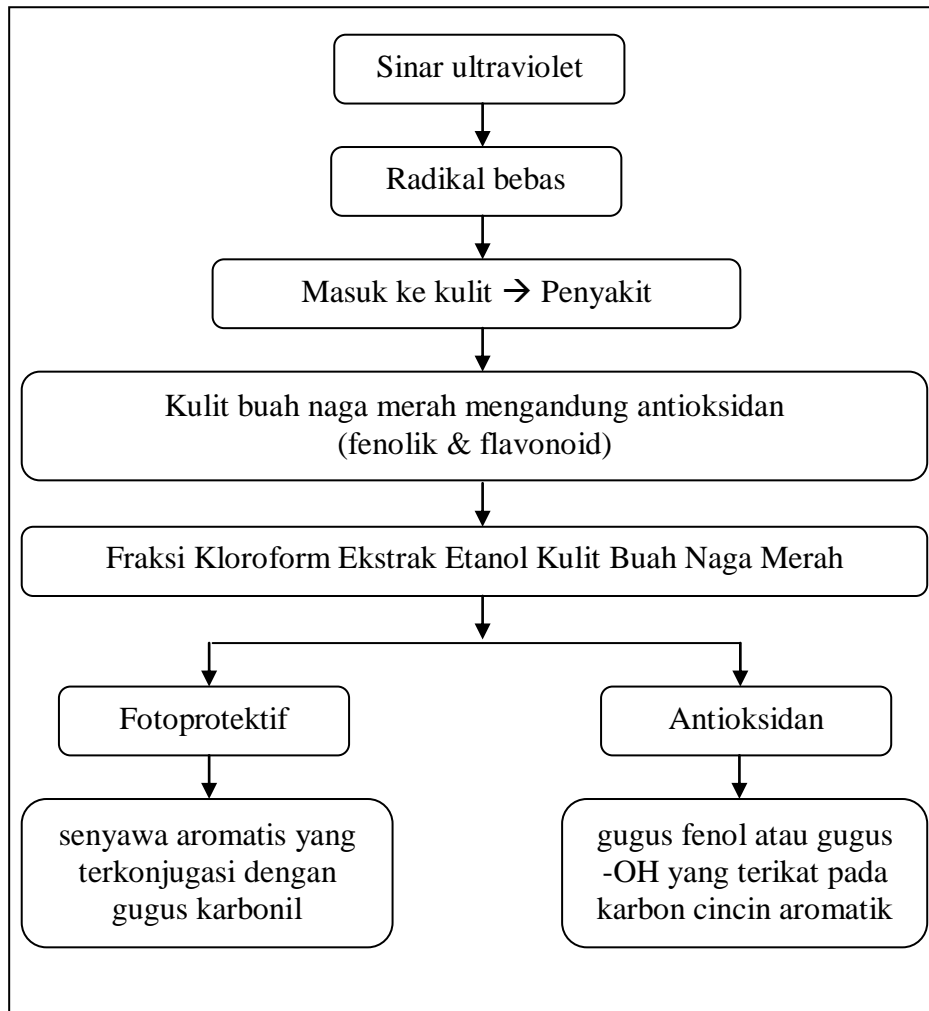
Gambar 4. Persamaan reaksi uji penangkapan radikal bebas DPPH (Molyneux, 2004)

Pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode DPPH menggunakan prinsip spektrofotometri. Senyawa DPPH dalam metanol berwarna ungu tua terdeteksi pada panjang gelombang sinar tampak sekitar 515-517 nm. Parameter untuk menginterpretasi hasil pengujian DPPH adalah dengan nilai IC_{50} (*Inhibitor Concentration*). IC_{50} merupakan konsentrasi larutan substrat atau sampel yang mampu mereduksi aktivitas DPPH sebesar 50%. Semakin kecil nilai IC_{50} berarti semakin tinggi aktivitas antioksidan. Tingkat aktivitas antioksidan diklasifikasikan berdasarkan nilai IC_{50} (tabel 2).

Tabel 2. Tingkat aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (Jun, 2003)

| IC ₅₀ | Keterangan |
|------------------|-------------|
| <50 µg/mL | Sangat kuat |
| 50 -100 µg/mL | Kuat |
| 100- 150 µg/mL | Sedang |
| >150 µg/mL | Lemah |

I. Kerangka Konsep



Gambar 5. Kerangka konsep

Paparan terhadap sinar ultraviolet bertanggung jawab terhadap beberapa penyakit kulit seperti penuaan dini, dilatasi pembuluh darah, kehilangan kolagen dan kanker kulit (Nichols dan Katiyar, 2010). Senyawa fenolik seperti flavonoid juga bersifat sebagai antioksidan sehingga berpotensi untuk mengurangi risiko penyakit seperti penyakit jantung koroner dan kanker.

Selain bersifat sebagai antioksidan, flavonoid juga bersifat sebagai penghambat enzim dan mempunyai efek terhadap bakteri (Foong dkk., 2012).

Selain sebagai antioksidan, flavonoid juga dapat digunakan sebagai agen fotoprotektif karena memiliki kemampuan dalam menyerap sinar UV (Saewan dan Jimtaisong, 2013). Senyawa kimia dalam tabir surya sintetik umumnya adalah senyawa aromatis yang terkonjugasi dengan gugus karbonil. Struktur ini dapat menyerap energi yang tinggi dari matahari kemudian melepas energi tersebut menjadi lebih rendah (Rai dkk., 2007).

Buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) merupakan buah yang mengandung berbagai senyawa bioaktif, salah satunya adalah senyawa fenolik dan flavonoid (Foong dkk., 2011). Daya antioksidan kulit buah naga merah dapat diketahui dengan melakukan analisis kadar fenolik total dan uji DPPH. Kadar fenol akan menentukan bagaimana daya antioksidan kulit buah naga merah. Daya fotoprotektif kulit buah naga merah diketahui dengan melakukan uji KLT, analisis kadar flavonoid total, dan uji SPF. Hasil dari uji KLT dan analisis kadar flavonoid total menyatakan bagaimana kandungan flavonoid dalam kulit buah naga merah. Kandungan flavonoid akan menentukan bagaimana daya fotoprotektif kulit buah naga merah.

J. Hipotesis

Hipotesis pada penelitian ini adalah:

1. Fraksi kloroform ekstrak etanolik kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) mengandung flavonoid yang diuji menggunakan uji KLT dan

metode khelasi AlCl_3 serta mengandung senyawa fenolik yang diuji menggunakan metode Folin-Ciocalteu.

2. Fraksi kloroform ekstrak etanolik kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) memiliki daya antioksidan dilihat dari nilai IC_{50} yang diuji dengan metode DPPH.
3. Fraksi kloroform ekstrak etanolik kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) memiliki daya fotoprotektif dilihat dari nilai SPF yang diuji menggunakan metode spektrofotometri.