

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN TABIR SURYA
DARI EKSTRAK DAUN ALPUKAT (*Persea americana* M.)**

**ACTIVITY TEST OF ANTIOXIDANT AND SUNSCREEN FROM AVOCADO
LEAVES EXTRACT (*Persea americana* M.)**

Jenny Pontoan

Fakultas Farmasi Universitas 17 Agustus 1945 Jakarta

Email: jenny.pontoan@uta45jakarta.ac.id

ABSTRAK

Tabir surya merupakan sediaan kosmetika yang digunakan dengan maksud melindungi kulit dari paparan sinar matahari dengan jalan memantulkan atau menyerap sinar matahari secara efektif terutama pada daerah emisi gelombang ultraviolet, sehingga dapat mencegah terjadinya gangguan kulit karena terpapar sinar matahari. Bahan aktif tabir surya yang digunakan dapat berupa senyawa sintetik ataupun senyawa yang berasal dari alam. Penelitian dilakukan untuk menentukan aktivitas ekstrak daun alpukat (*Persea americana* M.) sebagai tabir surya secara *in vitro* dan menguji aktivitas krim ekstrak daun alpukat (*Persea americana* M.) sebagai tabir surya secara *in vivo*. Penelitian ini menggunakan metode eksperimen laboratorium. Hasil penelitian menunjukkan bahwa daun alpukat memiliki kandungan metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavonoid dan saponin. Ekstraksi menggunakan tiga pelarut yaitu metanol, etanol dan aseton menghasilkan rendemen terbesar pada pelarut metanol (22,54). Kandungan total fenolik tertinggi pada pelarut aseton (71,32), flavonoid tertinggi pada pelarut etanol (6,63), uji aktivitas antioksidan (DPPH dan daya reduksi) tertinggi pada pelarut aseton sedangkan nilai SPF tertinggi pada pelarut etanol (14,45).

Kata Kunci: Daun Alpukat (*Persea americana* M.), Antioksidan, Tabir Surya, SPF

ABSTRACT

Sunscreen is cosmetics preparation used for protecting skin from sunburn exposure by means of reflecting or absorbing sunlight effectively, particularly in the area of ultraviolet wave emission so that it can prevent the occurrence of skin disorder due to the exposure of sunlight. The used sunscreen active material can be in the form of synthetic compound or compound deriving from the nature. The study is conducted by determining the activity avocado leaves extract (*Persea americana* M.) as sunscreen through *in vitro* and test the activity of avocado leaves extract cream (*Persea americana* M.) as sunscreen through *in vivo*. This study utilizes laboratory experiment method. The result of the study shows that avocado leaves have secondary metabolite contents such as alkaloid, flavonoid and saponin. Extraction uses three solvents such as methanol, ethanol and acetone resulting the biggest yield in methanol solvent (22,54). The highest phenolic total content is on acetone solvent (71,32), the highest flavonoid on ethanol solvent (6,63), the highest antioxidant activity test (DPPH and reduction power) on acetone solvent, whereas the highest SPF is on ethanol solvent (14,45).

Keyword: Avocado leaves (*Persea americana* M.), Antioxidant, Sunscreen, SPF

PENDAHULUAN

Sinar matahari yang sampai di permukaan bumi dibedakan menjadi sinar ultraviolet A panjang gelombang 320-400 nm, ultraviolet B panjang gelombang 290-320 nm dan ultraviolet C panjang gelombang 200-290 nm, sinar ultraviolet tersebut memiliki efek terhadap kulit (Rieger, 2000). Sinar ultraviolet hanya merupakan sebagian kecil dari spektrum sinar matahari, namun sinar ini paling berbahaya bagi kulit karena reaksi-reaksi yang ditimbulkannya berpengaruh buruk terhadap kulit manusia, seperti eritema, pigmentasi, fotosensitivitas, maupun penuaan dini (Fahlman, 2009). Untuk mencegah efek buruk paparan sinar matahari maka dilakukan beberapa cara untuk menghindari paparan berlebihan seperti tidak berada di luar rumah pada jam 10:00-16:00, memakai perlindungan fisik seperti pakaian tertutup, payung dan memakai tabir surya apabila memang kegiatan mengharuskan berada di bawah terik matahari (Perwitasari, dkk., 1999).

Tabir surya merupakan sediaan kosmetika yang digunakan dengan maksud melindungi kulit dari paparan sinar matahari dengan jalan memantulkan atau menyerap sinar matahari secara efektif terutama pada daerah emisi gelombang ultraviolet, sehingga dapat mencegah terjadinya gangguan kulit karena terpapar sinar matahari (Soeratri dan Purwanti, 2004). Bahan aktif tabir surya yang digunakan dapat berupa senyawa sintetik ataupun senyawa yang berasal dari alam. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa senyawa sintetik dapat menyebabkan penyakit pada kulit. Karena itu, para ahli kosmetik dan farmasi mencari senyawa alam yang dapat berperan sebagai tabir surya.

Daun alpukat diduga memiliki aktivitas sebagai tabir surya karena Katja dkk., (2009) menyatakan bahwa daun alpukat memiliki aktivitas sebagai antioksidan, sedangkan Black (1990) menyatakan bahwa antioksidan memiliki potensi sebagai fotoprotektor. Sinar UV dapat memacu pembentukan sejumlah senyawa reaktif atau radikal bebas pada kulit. Hal tersebut yang mendorong penulis untuk melakukan penelitian mengenai “Uji Aktivitas Ekstrak Daun Alpukat (*Persea americana* M.) sebagai Krim Tabir Surya” secara *in vitro* dan *in vivo*.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Sampel yang digunakan yaitu daun alpukat (*Persea americana* M.). Bahan kimia yang digunakan berkualifikasi pro. analis (p.a) yaitu etanol, metanol, aseton, kloroform, amoniak, asam sulfat, dietil eter, natrium klorida, besi (III) klorida, asam klorida pekat, serbuk magnesium, pereaksi Mayer, Dragendorff, Wagner, Lieberman-Buchard, reagen Folin-Ciocalteu, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), vanillin, buffer posfat pH 6,6, kalium ferisianat, asam trikloroasetat, adeps lanae, setil alkohol, cera alba, paraffin cair, polisorbitat 80 (tween 80) dan sorbitan monooleat (span 80). Bahan lainnya yaitu tabir surya yang beredar di pasaran dengan nilai SPF 15 (No. Reg. 435415), aquades. Hewan percobaan yang digunakan adalah marmot (*Cavia porcellus*).

Prosedur Penelitian

a. Persiapan Sampel

Daun alpukat (*Persea americana* M.) yang dipetik dicuci dengan air bersih lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Sampel yang telah kering dihaluskan dengan cara diblender, setelah itu diayak (mesh 65) untuk memperoleh serbuk.

b. Penapisan Fitokimia

b.1. Penapisan alkaloid

Sampel sebanyak 2 g diekstraksi dengan kloroform, ekstraknya ditambahkan amoniak 0,05 N, kemudian tambahkan asam sulfat 2 N, sehingga akan terbentuk 2 fraksi yaitu fraksi asam dan fraksi kloroform. Fraksi asam dibagi 2 bagian dalam tabung reaksi. Masing-masing tabung ditetesi dengan pereaksi Mayer dan Dragendorff. Endapan putih pada pereaksi Mayer dan jingga pada pereaksi Dragendorff, jika tidak ada endapan menunjukkan negatif alkaloid (Kuntara, 1989).

b.2. Penapisan triterpen, steroid dan saponin

Sebanyak 2 g sampel diekstraksi dengan etanol panas. Ekstrak diuapkan kemudian diekstraksi dengan dietil eter. Ekstrak pekat dietil eter selanjutnya diuji dengan pereaksi Lieberman-Buchard. Timbul warna biru atau hijau menunjukkan adanya steroid sedangkan warna ungu, merah atau merah muda menunjukkan adanya triterpenoid. Untuk menunjukkan adanya saponin caranya, residu diberi air suling dan dikocok kuat. Jika terbentuk busa setinggi 3-5 cm dan bertahan selama 15 menit menunjukkan positif saponin sebaliknya jika tidak ada busa menunjukkan negatif saponin (Kuntara, 1989).

b.3. Penapisan flavanoid dan tanin

Sebanyak 2 g sampel diekstraksi dengan metanol kemudian saring. Filtratnya ditambahkan 4 tetes natrium klorida, saring dan ditetesi dengan 5 tetes besi (III) klorida 1%. Jika ada endapan, menunjukkan positif tanin, sebaliknya jika tidak ada endapan menunjukkan negatif tanin. Untuk flavanoid, sampel sebanyak 2 g diekstraksi dengan metanol dimasukkan dalam tabung reaksi dan dipanaskan selama 5 menit. Hasil ekstrak dipipet dan dimasukkan dalam tabung reaksi lain. Selanjutnya ditambahkan beberapa tetes asam klorida pekat lalu ditambahkan 0,2 g serbuk magnesium. Adanya flavanoid ditunjukkan oleh timbulnya warna merah tua (magenta) (Miranda, 1986).

c. Ekstraksi

Ekstraksi daun alpukat menggunakan pelarut etanol 80%, metanol 80% dan aseton 80%. Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi. Sebanyak 10 g serbuk daun alpukat dimasukkan ke dalam gelas erlenmeyer lalu tambahkan pelarut 100 mL hingga sampel terendam semuanya. Kemudian disaring dan residu direndam lagi dengan pelarut yang sama selama 3 jam. Filtrat diuapkan untuk menghilangkan pelarutnya menggunakan rotari evaporator sehingga diperoleh ekstrak kasar daun alpukat.

d. Penentuan Kandungan Total Fenolik

Sebanyak 0,1 mL larutan ekstrak dimasukkan dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 0,1 mL reagen Folin Ciocalteu 50%. Campuran tersebut divortex selama 3 menit, lalu ditambahkan 2 mL larutan natrium karbonat 2%. Selanjutnya campuran diinkubasi dalam ruang gelap selama 30 menit. Absorbansinya dibaca pada λ 750 nm dengan spektrofotometer.

Kandungan total fenol dinyatakan sebagai mg ekuivalen asam galat/g ekstrak (Conde, *et al.*, 1997).

e. Penentuan Kandungan Total Flavonoid

Sebanyak 2 ml larutan ekstrak 100 ppm ditambah dengan 2 mL aluminium klorida 2% yang telah dilarutkan dalam etanol, kemudian divorteks dan absorbansi dibaca pada λ 415 nm. Kandungan total flavonoid dinyatakan sebagai ekuivalen kuersetin dalam mg/kg ekstrak. Kurva kalibrasi dipersiapkan pada cara yang sama menggunakan kuersetin sebagai standar (Meda, *et al.*, 2005).

f. Penentuan Kandungan Total Tanin Terkondensasi

Sebanyak 0,1 mL larutan ekstrak 100 ppm dimasukkan dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 2 mL vanillin 4% (b/v) dalam metanol dan divorteks. Segera sesudah ditambahkan 1 mL asam klorida pekat dan divorteks lagi. Absorbansi sampel dibaca pada λ 500 nm setelah campuran diinkubasi selama 20 menit pada suhu kamar. Kandungan tanin terkondensasi dinyatakan sebagai ekuivalen katekin dalam mg/kg ekstrak. Kurva kalibrasi dipersiapkan pada cara yang sama menggunakan katekin sebagai standar (Julkenen-Titto, 1985).

g. Penentuan Aktivitas Antioksidan

g.1. Penentuan Penangkal Radikal Bebas DPPH

Sebanyak 1 mL masing-masing ekstrak ditambahkan dengan 2 mL larutan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) dan divorteks selama 2 menit. Berubahnya warna larutan dari ungu ke kuning menunjukkan efisiensi penangkal radikal bebas. Selanjutnya pada 5 menit terakhir menjelang 30 menit inkubasi, absorbansi diukur pada λ 517 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Burda dan Olezek, 2001). Aktivitas penangkapan radikal bebas dihitung sebagai persentase berkurangnya warna DPPH dengan menggunakan persamaan;

$$\text{Aktivitas penangkal radikal bebas (\%)} = \frac{1 - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

g.2. Penentuan Daya Reduksi

Sebanyak 0,1 mL larutan ekstrak, ditambahkan 1 mL air deionisasi selanjutnya dicampur dengan 1 mL buffer fosfat 0,2 M, pH 6,6 dan 1 mL kalium ferisianat 1%, campuran diinkubasi pada suhu 50°C selama 20 menit. Setelah selesai diinkubasi campuran ditambahkan dengan 1 mL asam trikloroasetat dan divorteks selama 5 menit, selanjutnya di sentrifus pada 3000 rpm selama 10 menit. Sebanyak 1 ml lapisan atas dari larutan tersebut ditambah 1 mL air deionisasi dan 0,5 ml besi (III) klorida 0,1 %. Absorbansi diukur pada λ 700 nm dengan spektrofotometer (Yen and Chen, 1995). Meningkatnya absorbansi dan campuran tersebut berarti menunjukkan bertambahnya daya reduksi.

h. Penentuan Nilai SPF secara *In Vitro*

Penentuan efektivitas tabir surya dilakukan dengan menentukan nilai SPF secara *in vitro* dengan spektrofotometri (Kawira, 2005). Timbang ekstrak daun alpukat (*Persea americana* M.) sebanyak 125 mg, tambahkan etanol 90% sebanyak 10 mL campur hingga homogen. 1 mL larutan ekstrak dilarutkan dalam etanol 90% hingga 10 mL (enceran 1). Diencerkan 1 mL enceran 1 dengan etanol 90% hingga 10 mL (larutan uji 1). Larutan uji 1 disaring dengan ultrafilter, ambil filtrat (larutan uji 2). Dibuat kurva serapan uji dalam kuvet 1 cm, dengan

panjang gelombang antara 290 dan 360 nm, gunakan etanol sebagai blanko. Kemudian tetapkan serapan rata-ratanya (A_r). Serapan larutan uji 1 menunjukkan pengaruh zat yang menyerap maupun yang memantulkan sinar UV dalam larutan, serapan larutan uji 2 menunjukkan pengaruh zat yang menyerap sinar UV dalam larutan saja. Kemudian dihitung rata-rata larutan uji dengan kadar baku 125 mg per liter (A_s) dengan rumus :

$$A_s = \frac{125}{m} A_r$$

m adalah bobot dalam mg bahan uji yang ditimbang.

Nilai SPF dihitung dengan rumus : $SPF = \text{antilog } 2 A_s$

Penetapan serapan rata-rata (A_r) dilakukan dengan cara mengukur serapan larutan uji pada λ antara 290 dan 360 nm dengan interval 2,5 nm. A_r dihitung dengan rumus :

$$A_r = \frac{[1,25 (A_{290} + A_{360}) + 2,5 (A_{292,5} + A_{295} + \dots + A_{357,5})]}{70}$$

Hal yang sama dilakukan pada masing-masing ekstrak (ekstrak metanol 80%, etanol 80%, aseton 80%) dan pembandingnya yaitu tabir surya yang beredar di pasaran.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

a. Penapisan Fitokimia

Hasil analisis kualitatif (penapisan fitokimia) metabolit sekunder daun alpukat dapat dilihat pada Tabel 1.

b. Rendemen

Ekstraksi sampel daun alpukat menggunakan pelarut metanol 80% (EM), etanol 80% (EE) dan aseton 80% (EA) dengan berat sampel masing-masing 10 gram diperoleh rendemen seperti pada Tabel 2.

Tabel 1. Hasil Penapisan Fitokimia Daun Alpukat

| Pemeriksaan | Pereaksi | Hasil Pengujian | Indikator |
|-------------|-------------------|-----------------|--|
| Alkaloid | Mayer | + | Endapan putih |
| | Dragendorff | + | Endapan jingga |
| Saponin | - | + | Terbentuk busa |
| Flavanoid | - | + | Terjadi perubahan warna merah tua (merah bata) |
| Tanin | FeCl ₃ | - | - |
| Steroid | Lieberman-Buchard | - | - |
| | Lieberman-Buchard | - | - |

Keterangan hasil pengamatan : tidak ada (-), ada (+)

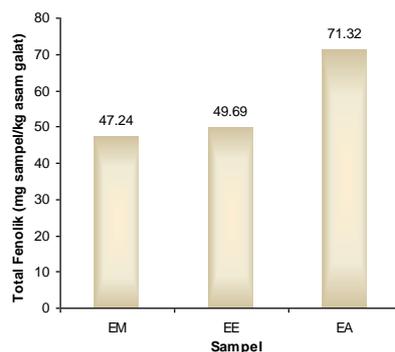
Tabel 2. Persen Rendemen Ekstrak Daun Alpukat

| Sampel | Berat ekstrak (g) | Rendemen (%) |
|--------|-------------------|--------------|
| EM | 2,2543 | 22,54 |
| EE | 1,7994 | 17,99 |
| EA | 2,1375 | 21,38 |

Ket : EM (Ekstrak Metanol), EE (Ekstrak Etanol), EA (Ekstrak Aseton)

c. Kandungan Total Fenolik

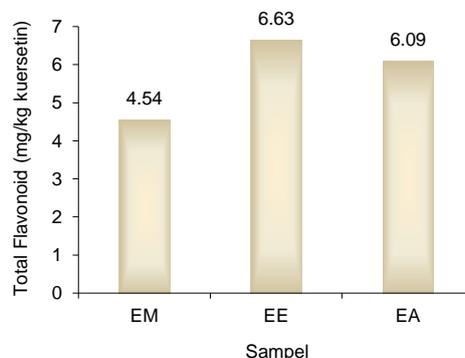
Kandungan total fenolik dari ekstrak metanol, ekstrak etanol dan ekstrak aseton daun alpukat pada konsentrasi 100 ppm dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Kandungan Total Fenolik (EM, ekstrak metanol; EE, ekstrak etanol; EA, ekstrak aseton)

d. Kandungan Total Flavonoid

Kandungan total flavonoid dari ketiga ekstrak daun alpukat yaitu ekstrak metanol, ekstrak etanol dan ekstrak aseton pada konsentrasi 100 ppm dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Kandungan Total Flavonoid (EM, ekstrak metanol; EE, ekstrak etanol; EA, ekstrak aseton)

e. Kandungan Total Tanin Terkondensasi

Analisis kuantitatif kandungan total tanin terkondensasi dari ketiga ekstrak daun alpukat yaitu ekstrak metanol (EM), ekstrak etanol (EE) dan ekstrak aseton (EA) pada konsentrasi 100 ppm tidak menunjukkan hasil positif atau tidak terdeteksi. Hal ini sesuai dengan hasil analisis kualitatif yang tidak menunjukkan hasil positif pada penapisan fitokimia tanin.

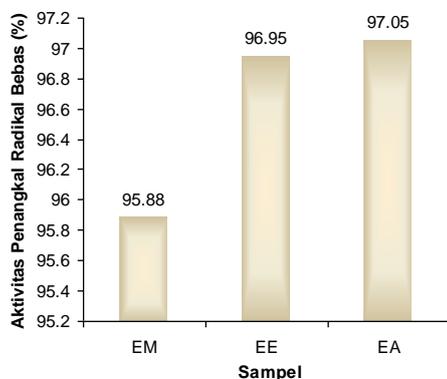
f. Pengujian Aktivitas Antioksidan

f.1. Aktivitas Penangkal Radikal Bebas DPPH

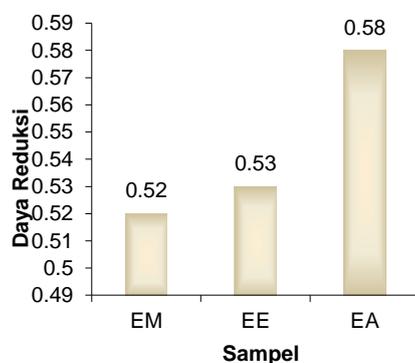
Gambar 3 menunjukkan aktivitas penangkal radikal bebas dari ekstrak daun alpukat dengan konsentrasi 100 ppm menggunakan uji DPPH.

f.2. Pengujian Daya Reduksi

Daya reduksi dari ekstrak metanol, ekstrak etanol dan ekstrak aseton daun alpukat seperti pada Gambar 4.



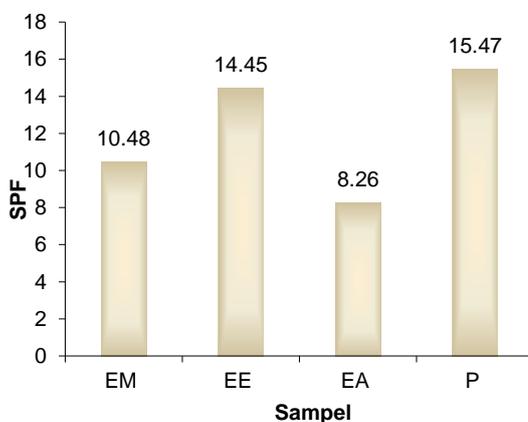
Gambar 3. Aktivitas Penangkal Radikal Bebas DPPH (EM, ekstrak metanol; EE, ekstrak etanol; EA, ekstrak aseton)



Gambar 4. Penentuan Daya Reduksi (EM, ekstrak metanol; EE, ekstrak etanol; EA, ekstrak aseton)

g. Penentuan Nilai SPF secara *In Vitro*

Nilai SPF dilakukan terhadap 3 ekstrak daun alpukat yaitu ekstrak metanol (EM), ekstrak etanol (EE) dan ekstrak aseton (EA) serta pembandingan (tabir surya yang beredar di pasaran). Masing-masing sediaan diukur serapannya pada λ 290-360 nm yang merupakan daerah UV A dan UV B, hasil yang diperoleh dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Nilai SPF (EM, ekstrak metanol; EE, ekstrak etanol; EA, ekstrak aseton; P pembandingan)

Pembahasan

a. Penapisan Fitokimia

Senyawa metabolit sekunder tersebut adalah alkaloid, flavonoid, terpenoid, steroid, saponin dan tanin (Herbert, 1995). Pengujian alkaloid menggunakan pereaksi Mayer dan Dragendorff menunjukkan positif mengandung alkaloid karena membentuk endapan. Dalam bidang farmasi, alkaloid memiliki efek yang memicu sistem saraf, mengurangi rasa sakit dan dapat berperan sebagai antimikroba (Makang, 2005).

Pada pengujian flavonoid, penambahan serbuk magnesium dan asam klorida menyebabkan perubahan warna menjadi merah yang merupakan ciri adanya flavonoid pada sampel. Flavonoid digunakan dalam bidang farmasi sebagai antioksidan, mengobati gangguan fungsi hati dan berperan sebagai antihipertensi (Robinson, 1995).

Sampel daun alpukat mengandung saponin karena membenntuk busa. Saponin yang terdapat dalam tanaman merupakan prekursor kortison (Sirait, 2007), sedangkan menurut Robinson (Robinson, 1995), saponin dapat digunakan sebagai antimikroba. Pengujian tanin, terpenoid dan steroid tidak menunjukkan hasil positif (Tabel 1).

b. Rendemen

Rendemen merupakan persentase antara bagian yang dapat terekstrak dengan bahan mentah. Penggunaan pelarut yang berbeda dimaksudkan untuk membandingkan pelarut mana lebih efektif. Harborne (1983) mengatakan bahwa komponen fenolik dapat diekstraksi dari bahan tumbuhan dengan menggunakan pelarut polar, seperti air, etanol, metanol dan aseton.

Pada tabel 2 di atas jelas bahwa ekstraksi menggunakan pelarut metanol 80% (EM) menghasilkan rendemen terbanyak yaitu 22,54% dibandingkan pelarut etanol 80% (EE) dan aseton 80% (EA).

c. Kandungan Total Fenolik

Kandungan total fenolik tertinggi terdapat pada EA sebesar 71,32 mg/kg, sedangkan terendah terdapat pada EM sebesar 47,24 mg/kg (Gambar 1). Adanya kandungan fenolik dalam ekstrak ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi biru saat ditetesi dengan reagen Folin-Ciocalteu (Shahidi and Nacz, 2004). Menurut Astawan dan Kasih (Astawan dan Kasih, 2008), senyawa fenol terbagi menjadi dua bagian besar yaitu flavonoid dan asam fenolat yang sangat efektif sebagai antioksidan. Senyawa fenol dapat berperan sebagai donor hidrogen radikal bebas sehingga menghasilkan radikal stabil yang berenergi rendah yang berasal dari senyawa fenolik yang kehilangan atom hidrogen (Shahidi, and Nacz, 2004).

d. Kandungan Total Flavonoid

Kandungan total flavonoid tertinggi terdapat pada EE sebesar 6,63 mg/kg, sedangkan terendah terdapat pada EM sebesar 4,54 mg/kg (Gambar 2). Flavonoid dapat berperan sebagai antioksidan (Penman and Gordon, 1998), antiinflamasi, dapat mencegah penyakit kardiovaskuler dengan cara menurunkan laju oksidasi lemak serta dapat menurunkan hiperlipidemia (Astawan dan Kasih, 2008).

e. Pengujian Aktivitas Antioksidan

e.1. Aktivitas Penangkal Radikal Bebas DPPH

Gambar 3 menunjukkan bahwa ekstrak aseton (EA) memiliki aktivitas penangkal radikal bebas lebih tinggi jika dibandingkan dengan ekstrak etanol (EE) dan ekstrak metanol

(EM). Hasil yang diperoleh menunjukkan adanya korelasi antara aktivitas penangkal radikal bebas dan kandungan fenolik. Komponen fenolik yang terdapat dalam daun alpukat dapat berperan sebagai penangkal radikal bebas dengan cara mendonorkan atom hidrogennya ke radikal bebas dan menghasilkan radikal yang stabil.

Senyawa radikal DPPH biasanya digunakan sebagai substrat untuk mengevaluasi aktivitas penangkal radikal bebas. Radikal DPPH adalah radikal tidak stabil dan menerima satu elektron atau hidrogen menjadi molekul yang stabil (Matthaus, 2002). Dengan demikian, penurunan nilai absorbansi DPPH mempunyai arti bahwa telah terjadi penangkapan radikal DPPH oleh komponen sampel. Molyneux (Molyneux, 2004) menyatakan bahwa kemampuan sebagai penangkal radikal bebas DPPH dapat dilihat dari kemampuan untuk melepaskan atom hidrogen ke radikal difenilpikrilhidrazil (violet) menjadi senyawa non-radikal difenilpikrilhidrazin (kuning). Reaksi antara radikal bebas DPPH dengan senyawa fenolik dapat dilihat pada persamaan berikut ini.



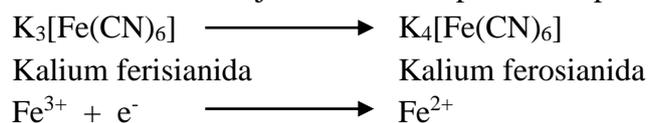
e.2. Pengujian Daya Reduksi

Pengujian daya reduksi ekstrak daun alpukat didasarkan pada kemampuan senyawa tersebut mereduksi ion Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} . Kemampuan mereduksi dari ketiga ekstrak daun alpukat dapat dilihat pada gambar 4 yang menunjukkan EA memiliki daya reduksi lebih tinggi dibandingkan EE dan EM. Aktivitas antioksidan berhubungan dengan kemampuan mereduksi dari suatu senyawa.

Senyawa pereduksi atau reduktor yang terdapat dalam daun alpukat digolongkan dalam antioksidan alami. Senyawa alami tersebut yaitu fenolik, dimana kandungan tertinggi terdapat pada EA (Gambar 1). Hasil tersebut menunjukkan bahwa sifat antioksidan dari ekstrak daun alpukat diperkirakan mempunyai hubungan dengan penangkapan radikal bebas dan total fenolik.

Menurut Yen dan Chen (1995), ekstrak dengan daya reduksi tinggi merupakan donor elektron yang bagus untuk menghentikan reaksi rantai radikal dengan cara mengubah radikal bebas menjadi produk yang lebih stabil. Yen dan Duh (1994) menyatakan bahwa daya reduksi senyawa bioaktif berhubungan dengan aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan dengan daya reduksi menunjukkan korelasi positif. Reduktor (antioksidan) dalam sampel akan mereduksikan Fe^{3+} (kompleks kalium ferisianida [$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$]) menjadi Fe^{2+} (bentuk ferro) (Lai, *et al.*, 2001).

Reaksi reduksi ion Fe^{3+} menjadi ion Fe^{2+} dapat dilihat pada persamaan:



Asam trikloroasetat 10% ditambahkan ke dalam larutan agar kompleks kalium ferrosianida mengendap dan dapat dipisahkan. Proses pemisahannya dibantu dengan sentrifugasi. Supernatan yang diambil direaksikan dengan larutan FeCl_3 0,1% untuk membentuk kompleks berwarna biru (*Pearl's Prussian Blue*) sehingga dapat dibaca pada spektrofotometer dengan λ 700 nm (Shahidi and Naczki, 2004). Terbentuknya warna biru

menyebabkan kenaikan pada nilai absorbansi sampel. Makin biru warna yang terbentuk pada sampel makin tinggi nilai absorbansinya (Lai, *et al.*, 2001).

f. Penentuan Nilai SPF secara *In Vitro*

Penentuan nilai SPF dilakukan terhadap 3 ekstrak dan masing-masing sediaan diukur serapannya pada λ 290-360 nm yang merupakan daerah UV A dan UV B, hasil yang diperoleh (Gambar 5) menunjukkan EE memiliki nilai SPF tertinggi yaitu 14.45 dibandingkan EM dan EA. Pembanding digunakan tabir surya yang beredar di pasaran yang memiliki nilai SPF 15. Nilai SPF tersebut ternyata sama dengan hasil pengujian. Larutan uji 1 dan larutan uji 2 memiliki nilai SPF yang sama. Hasil pengujian juga menunjukkan bahwa ekstrak daun alpukat memiliki aktivitas pada spektrum UV A dan UV B, begitupun dengan pembandingnya.

Efektivitas tabir surya ditentukan oleh nilai SPF. Data yang diperoleh (Gambar 5) menunjukkan ketiga ekstrak daun alpukat memenuhi persyaratan sebagai tabir surya, karena nilai SPF yang dihasilkan > 2 (merupakan nilai minimum SPF). Krim tabir surya yang digunakan sebagai pembanding mengandung bahan aktif methoxycinnamate, benzophenon dan titanium dioksida yang dapat memberikan perlindungan terhadap UV A dan UV B.

Nilai SPF tertinggi terdapat pada EE, sedangkan pada penentuan kandungan flavonoid, EE memiliki kandungan lebih tinggi. Hal tersebut menunjukkan bahwa kemungkinan senyawa aktif yang berpotensi sebagai tabir surya yaitu flavonoid serta adanya korelasi antara aktivitas tabir surya dan antioksidan.

Black (1990) menyatakan bahwa antioksidan memiliki potensi sebagai fotoprotektor. Cahaya UV dapat memacu pembentukan sejumlah senyawa reaktif (ROS) atau radikal bebas pada kulit. Senyawa dengan kemampuan antioksidan atau penangkap radikal bebas dapat berkompetisi dengan molekul target dan mengurangi efek yang merugikan.

Sugihartini *dkk.*, (2004) dalam penelitiannya menyatakan bahwa penambahan fraksi etanol dari daun *Plantago major* L. dapat meningkatkan efektivitas tabir surya bahan aktif oktilmetoksisinamat. Fraksi etanol tersebut mengandung flavonoid yang memberikan serapan pada λ 331,8 nm yang merupakan daerah spektra UV A, sehingga penambahan fraksi etanol tersebut mempunyai efek proteksi terhadap UV A.

KESIMPULAN

Berdasarkan data yang diperoleh, dapat disimpulkan bahwa secara *in vitro*, ekstrak daun alpukat (*Persea americana* M.) menunjukkan aktivitas sebagai antioksidan (antiradikal dan pereduksi) dan tabir surya dengan perlindungan maksimum (SPF 14,45).

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2009. Mereka yang Berkhasiat. *Alpukat* dalam Herbal Indonesia Berkhasiat, Bukti Ilmiah dan Cara Racik, Trubus Info Kit Vol.08, 2009.
- Astawan, M. dan A.L. Kasih. 2008. *Khasiat Warna-Warni Makanan*. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.

- Ayu S. W. 2009. *Merawat Kecantikan agar tetap Cantik dan Sehat*. Nuansa Aulia. Bandung.
- Black, H.S. 1990. *Antioxidant and Carotenoids as Potential Photoprotectants* dalam Nicholas, J.L dan A.S. Nadim. *Sunscreen Development, Evaluation and Regulatory Aspects*, Vol.10, Marcel Dekker Inc. New York.
- Burda, S. and W. Olezek. 2001. *Antioxidant and Antiradical Activities of Flavonoids*. J. Agric. Food Chem. 49: 2774-2779.
- Conde, E.E., M.C. Cadahia, Garcia-Vallejo, B.F.D. Simon and J.R.G. Adrados. 1997. *Low Molecular Weight Polyphenol in Cork of Quercus Suber*. J. Agric. Food Chem, 45, 2695-2700.
- Fahlman, B.M. 2009. *UV A and UV B Radiation-Induced Oxidation Products of Quercetin*. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology 97:123-131.
- Harborne, J.B. 1983. *Metode Fitokimia*. ITB Bandung.
- Herbert, B.R. 1995. *Biosintesis Metabolit Sekunder*. Edisi Kedua. Penerjemah: Bambang Sringandono, IKIP Semarang Press.
- Julkenen-Titto, R. 1985. *Phenolic Constituents in Leaves of Northern Willows: Methods for the Analysis of Certain Phenolic*. J. Agric. Food Chem. 33: 213-217.
- Katja, D.G., E. Suryanto dan F. Wehantouw. 2009. *Potensi Daun Alpukat (Persea americana Mill) sebagai Sumber Antioksidan Alami*. Chemistry Progress Vol.2, Nomor 1. FMIPA UNSRAT.
- Kawira, J.A. 2005. *Penetapan Sun Protection Factor*. Laboratorium Farmasi Universitas Indonesia. Depok Jakarta.
- Kuntara, A. 1989. *Isolasi dan Karakterisasi alkaloid Poliamina Daun Samanea saman*, Merr. Universitas Padjajaran Bandung. Skripsi.
- Lai, L-S, S-T. Chou and W-W. Chao. 2001. *Studies on The Antioxidative Activities of Hsiantsoo (Mesona Procumbens Hemsl) Leaf Gum*. J.Agric. Food Chem. 49:963-968.
- Makang, V.M.A. 2005. *Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat di Kabupaten Minahasa Utara*. FMIPA Unsrat, Manado. Skripsi.
- Matthaus, B. 2002. *Antioxidant Activity of Extracts Obtained from Residues of Different Oilseeds*. J.Agric. Food Chem. 50:3444-3452.
- Meda, A., C. E. Lamien, M. Romito, J. Milliogo and O.G Nacoulina. 2005. *Determination of the Total Phenolic, Flavonoid, and Proline Content in Burkina Fasan Money, as well as their Radical Scavenging Activity*. Food Chemistry, 91: 571-577.
- Miranda, S.R. 1986. *The Phytochemical, Microbiological Screening of Medical Plant*. Unesco University of Philipines.

- Molyneux, P. 2004. *The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity*. Songklanakarin J. Sci Technol. 26:211-219.
- Penman, A.R. and M.H. Gordon. 1998. *Antioxidant Properties of Myricetin and Quercetin in Oil and Emulsions*. J.Am.Oil.Chem.Soc.75:169-180.
- Perwitasari, I., D.K. Chandra, Etnawati dan Suyoto. 1999. *Peran Tabir Surya Kombinasi Sinamat dan Benzophenon pada Perubahan Warna Kulit Konstitutif Akibat Paparan UV-B*. Kumpulan Jurnal Kosmetik Medik, FKU-UGM.
- Rieger, M.M. 2000. *Harry's Cosmeticology* 8th edition. Chemical Publishing Co., Inc., New York.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. ITB, Bandung.
- Sirait, M. 2007. *Penuntun Fitokimia dalam Farmasi*. ITB, Bandung.
- Shahidi, F. and M. Naczk. 2004. *Phenolich in Food Neutraceuticals*. CRC Press. Boca Raton, Florida.
- Soeratri, W dan T. Purwanti. 2004. *Pengaruh Penambahan Asam Glikolat terhadap Efektivitas Sediaan Tabir Surya Kombinasi Anti UV-A dan Anti UV-B dalam Basis Gel*. Majalah Farmasi Airlangga. Vol. 4 No.3.
- Sugihartini, N., Marchaban. dan S. Pramono. 2005. *Pengaruh Penambahan Fraksi Etanol dari Infusa Daun Plantago major L. terhadap Efektivitas Oktil Metoksisinamat sebagai Bahan Aktif Tabir Surya*. Majalah Farmasi Indonesia, 16 (3), 130-135.
- Tranggono, R.I.S., F. Latifah dan J. Djajadisastra (ed). 2007. *Buku Pegangan Ilmu Pengetahuan Kosmetik*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Wasitaadmatdja, S.M. 1997. *Penuntun Ilmu Kosmetik Medik*. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Wilkinson, J.B. 1982. *Harry's Cosmeticology* 7th edition. George Godwin. London.
- Winarto, W.P. 2007. *Tanaman Obat Indonesia Untuk Pengobat Herbal*. Jilid 1. Karyasari Herba Media. Jakarta.
- Yen, G. C and H-Y. Chen. 1995. *Antioxidants Activity of Various Tea Extracts in Relation to their Antimutagenicity*. J. Agric. Food Chem. 43: 27-32.
- Yen, G.C. and P.Duh. 1994. *Antioxidative Properties of Methanolic Extracts from Peanut Hulls*. J.Agrc. Oil Chem. Soc. 70:383-386.