

**PENENTUAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN SPF
(*Sun Protection Factor*) DARI FRAKSI ETIL ASETAT
EKSTRAK BIJI MARKISA KONYAL (*Passiflora
ligularis* Juss)**

DRAFT PROPOSAL



Oleh:

OKTA ANGGRAINI

NIM : 1904163

**PROGRAM STUDI S1
FARMASIFAKULTAS
FARMASI
UNIVERSITAS PERINTIS
INDONESIAPADANG
2023**

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Efektivitas sediaan tabir surya didasarkan pada penentuan nilai SPF (*Sun Protection Factor*) yang menunjukkan kemampuan produk tabir surya dalam melindungi kulit dari paparan sinar UV (Stanfield, 2003). SPF (*Sun protection factor*) merupakan indikator universal yang menjelaskan tentang keefektifan dari suatu produk atau zat yang bersifat UV protektor, semakin tinggi nilai SPF (*Sun protection factor*) dari suatu produk atau zat aktif tabir surya, maka semakin efektif untuk melindungi kulit dari pengaruh sinar UV (Haeria dkk., 2014). Besar kecilnya nilai SPF dipengaruhi oleh kandungan antioksidan dari bahan aktif yang digunakan. Untuk melindungi tubuh dari serapan radikal bebas maka diperlukan suatu bahan yang berfungsi sebagai antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa metabolit sekunder yang digunakan untuk mencegah radikal bebas. Radikal bebas merupakan senyawa kimia yang dalam jumlah berlebihan dapat merusak Kesehatan. Radikal bebas dapat dijumpai pada lingkungan beberapa logam misalnya besi dan tembaga, asap rokok, polusi udara, makanan dalam kemasan, bahan aditif, dan sinar ultraviolet matahari yang menyebabkan radiasi (winarsi, 2007).

Semakin tinggi aktivitas antioksidan, semakin banyak radikal bebas yang dicegah. Semakin tinggi kadar senyawa fenolat pada suatu bahan berarti akan menunjukkan tingginya aktivitas antioksidan. Tanaman yang mengandung fenolik dapat digunakan dalam pencegahan radikal bebas (kate, 2014). Senyawa fenolik mampu bertindak sebagai antioksidan dengan memutuskan reaksi rantai radikal bebas secara langsung dan menangkap berbagai spesi reaktif seperti radikal

superoksida, hidroksil, peroksid dan asam hipoklorit (Nurmi, 2008). Salah satu sumber penghasil antioksidan alami adalah genus *Passiflora* yang dikenal juga dengan nama buah markisa. Markisa terdiri dari empat jenis spesies antara lain, *Passiflora edulis* (markisa ungu), *Passiflora flevicarpa* (markisa kuning), *Passiflora ligularis* (markisa konyal) dan *Passiflora quadrangularis* (markisa erpis) (Rukmana, 2003).

Beberapa penelitian menyebutkan bahwa kandungan kimia dari daun, batang dan buah markisa adalah senyawa saponin, polifenol dan flavonoid. Dan senyawa yang berperan sebagai antioksidan yang dapat ditemukan didalam buah markisa adalah karotenoid, polifenol dan vitamin C. (Faleiro *et al.*, 2019).

Di Indonesia buah markisa konyal diproduksi dengan mayoritas penghasil utama yakni Sumatera utara, Sulawesi utara, dan Sumatera barat. Di Sumatera utara dan Sulawesi selatan buah markisa umumnya dimanfaatkan untuk pembuatan sirup sedangkan di Sumatera barat markisa konyal dikonsumsi sebagai buah segar. Salah satu tempat budidaya markisa konyal di Sumatera barat adalah di daerah Alahan Panjang, Solok, Provinsi Sumatera Barat. Secara umum buah markisa memiliki banyak manfaat untuk Kesehatan antara lain menguatkan daya tahan tubuh, melancarkan pencernaan, menutrisi tubuh serta menangkap radikal bebas. (Karsinah, 2007)

Dari penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Ayu (2022) dilaporkan bahwa uji aktivitas antioksidan sampel didapatkan IC_{50} : 21,89 $\mu\text{g/ml}$ berdasarkan nilai IC_{50} dapat disimpulkan bahwa aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol biji buah markisa masuk kedalam kategori sangat kuat yakni pada rentang $<50 \mu\text{g/mL}$. Berdasarkan uraian diatas maka, peneliti akan melakukan penelitian Penentuan Aktivitas Antioksidan dan SPF dari Fraksi Etil Asetat ini menggunakan metode DPPH dan

penentuan nilai SPF dilakukan menggunakan spektrofotometri UV-Vis.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana aktivitas antioksidan dari fraksi etil Asetat ekstrak biji markisa konyal menggunakan metode DPPH?
2. Berapakah nilai SPF (*sun protection factor*) dari fraksi etil asetat ekstrak biji markisa konyal

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk menentukan aktivitas antioksidan dari fraksi etil asetat ekstrak biji markisa konyal menggunakan metode DPPH
2. Untuk mengetahui nilai SPF (*sun protection factor*) dari fraksi etil asetat ekstrak biji markisa konyal

1.4 Hipotesa

H₀ : Fraksi etil asetat ekstrak biji markisa konyal tidak memiliki aktivitas antioksidan dan SPF

H₁ : Fraksi etil asetat ekstrak biji markisa konyal memiliki aktivitas antioksidan dan SPF

1.5 Manfaat Penelitian

1. Penelitian ini bermanfaat dalam pengembangan ilmu pengetahuan terutama di bidang farmasi.
2. Manfaat bagi masyarakat memberikan informasi kepada masyarakat bahwa biji markisa konyal dapat dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan alami.
3. Untuk mengetahui dan memberi informasi nilai SPF (*sun protection factor*) dari fraksi Etil Asetat biji markisa konyal.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Botani Tumbuhan Markisa Konyal

2.1.1 Klasifikasi Tumbuhan Markisa



Gambar 1. Buah markisa konyal

(Pertanianku. Com, 2016)

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Passiflorales
Famili	: Passifloraceae
Genus	: Passiflora
Spesies	: <i>Passiflora ligularis</i> f. <i>lobata</i>

2.1.2 Nama Daerah

Markisa konyal memiliki nama lain seperti markisa bandung (karo), passion fruit (Inggris), *baixiang guo* (cina), Seawrs (Thailand), passievrucht (Belanda) dan buah susu (Malaysia) Markisa (Melayu) dan buwah negri (Jawa). (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1999).

2.1.3 Morfologi Tumbuhan

Markisa adalah salah satu buah lokal yang sangat potensial untuk dikembangkan, karena tanaman markisa memiliki berbagai keunggulan dalam hal budidaya yang tergolong mudah, tidak banyak perawatan, tahan terhadap hama dan penyakit serta dapat tumbuh di dataran tinggi dan dataran rendah (Suswati, Indrawati, & Masitoh, 2018).

Tanaman markisa memiliki perbedaan disetiap jenis markisa yang ada. Tanaman markisa memiliki tiga jenis yaitu: markisa ungu, markisa merah, dan markisa kuning. Ukuran buah lebih besar dibandingkan markisa ungu. Bentuk dari karekterisasi morfologi daun dan bunga juga sangat berbeda (Siregar *et al.*, 2018).

Tanaman famili Passiflora yang berasal dari perbanyakan generatif dari biji memiliki akar tunggang, sedangkan tanaman yang berasal dari perbanyakan vegetatif (setek batang atau cabang) tidak memiliki akar tunggang. Percabangan akar tanaman markisa adalah intensif. Selanjutnya sulur akar-akar pembelit yang tumbuh dari ketiak tangkai dan berperan utama untuk tegaknya batang dan cabang tanaman yang tumbuh selanjutnya (Pitojo dkk, 2010). Bentuk daun bulat sedikit lonjong dengan ujung daun meruncing dan tepi daunnya merata. Berukuran lebih besar dan lebih tebal, daun muda berwarna hijau dengan Panjang daun sekitar 20,2

cm dan lebar daun 10-13 cm. Daun tanaman markisa sangat rimbun, tumbuh secara bergantian pada batang atau cabang. Tiap helai daun bercapung tiga dan bergerigi, berwarna hijau mengkilap (Rukman, 2003).

Batang tanaman markisa mempunyai batang kecil, langsing, dan Panjang nya sekitar 13-15 cm. cabang-cabang tanaman saling tumpang tindih tidak beraturan. Pada cabang baru atau cabang muda akan berwarna hijau, semakin tua cabang tanaman akan berubah menjadi warna cokelat tua (cahyono, 2017). Bunga markisa berukuran besar dengan diameter 7-8 cm, mahkota bunga berbentuk benang dan memencar, pangkalnya berwarna ungu dan ujungnya berwarna putih (Karsinah dkk., 2008).

Kulit buah markisa konyal berwarna kuning, di dalam buah mengandung banyak biji yang berbentuk pipih, dan berwarna hitam. Biji-biji tersebut terbungkus oleh salut biji atau selaput lender biji yang mengandung cairan sari buah dengan rasa manis dan beraroma khas arum buah markisa.

2.1.4 kandungan Kimia dan kegunaan Tanaman Markisa

Daging buah yang berwarna kuning menunjukkan bahwa markisa mengandung banyak antioksidan (Armin dkk., 2014). Daun markisa mengandung senyawa saponin dan polifenol, sedangkan batang dan buah markisa mengandung saponin, polifenol, dan flavonoid. Buah markisa juga diketahui mengandung banyak air, protein, lemak, karbohidrat, serta Ca, fe, vitamin C, dan kalori (Karsinah dkk., 2008). Kulit buah markisa mengandung flavonoid, fenolik, dan steroid (sari dkk., 2021)

Buah markisa bermanfaat bagi Kesehatan, karena memiliki kandungan nutrisinya yang berkhasiat. Markisa konyal atau disebut juga sebagai markisa manis memiliki rasa yang manis dan menyegarkan dan sangat enak dikonsumsi sebagai buah segar (Karsinah *et al.*, 2007).

2.2 Simplisia

Simplisia adalah bahan alami yang telah dikeringkan dan dimanfaatkan sebagai obat-obatan herbal atau tradisional yang belum mengalami pengolahan apapun (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2017). Simplisia dapat dibedakan menjadi 3 bagian yaitu simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelican (mineral). Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Eksudat tanaman adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau isi sel dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya, atau zat-zat nabati lainnya dengan cara tertentu dipisahkan dari tanamannya dan belum berupa zat kimia murni (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

2.3 Ekstraksi

2.3.1 Pengertian Ekstraksi

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair (Direktorat Pengawasan Obat Tradisional, 2000). Simplisia yang diekstrak mengandung senyawa aktif yang dapat larut dan senyawa yang tidak dapat larut seperti serat, karbohidrat, protein, dan lain-lain. Senyawa aktif yang terdapat dalam simplisia dapat digolongkan ke dalam golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid, dan lain

sebagainya. Dengan diketahuinya senyawa aktif yang terkandung di dalam simplisia akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat akan menjadi lebih mudah.

Ekstrak adalah sediaan yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa 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 (Depkes RI, 1995).

2.3.2 Metode Ekstraksi

Menurut Direktorat Obat Tradisional (2000). Beberapa metode yang sering digunakan dalam ekstraksi bahan alam antara lain:

1. Cara Dingin

a. Maserasi

Maserasi merupakan ekstraksi yang dilakukan dengan merendam bahan tanaman (simplisia) dalam pelarut yang sesuai dengan beberapa kali pengadukan dalam wadah tertutup pada suhu kamar.

b. Perkolasi

Perkolasi merupakan ekstraksi yang dilakukan dengan mengalirkan pelarut baru melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi menggunakan perkolator yang biasanya dilakukan pada suhu ruangan. Proses ini terdiri dari tahap pengembangan bahan, tahap maserasi antara, dan tahap perkolasi sebenarnya (penetasan atau penampungan ekstrak) secara terus-menerus sehingga diperoleh ekstrak atau perkolat yang jumlahnya 1-5 kali bahan.

2. Cara Panas

a. Soxhlet

Soxhlet merupakan ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi secara kontinu dengan jumlah pelarut relative konstan dengan adanya pendingin balik.

b. Refluks

Refluks merupakan ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna.

c. Digesti

Digesti merupakan maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan (kamar), yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50°C.

d. Infusa

Infusa merupakan ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih), temperatur terukur (96-98°C) selama waktu tertentu (15-20 menit).

e. Dekok

Dekok merupakan ekstraksi infusa pada waktu yang lebih lama dan temperatur sampai titik didih air.

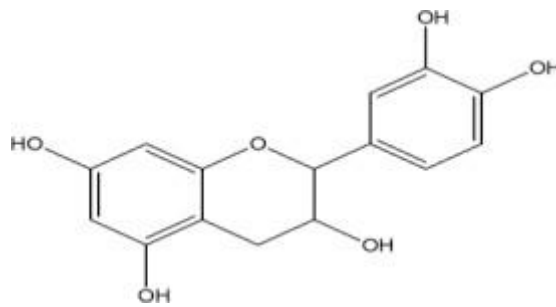
f. Fraksinasi

Fraksinasi merupakan ekstraksi yang bertujuan memisahkan golongan utama kandungan yang satu dari golongan utama yang lain. Pemisahan jumlah dan jenis senyawa menjadi fraksi yang berbeda yang tergantung pada jenis simplisia. Senyawa-senyawa yang bersifat polar akan masuk ke pelarut polar, begitu pula senyawa yang bersifat non polar akan masuk ke pelarut non polar (Harborne, 1987).

2.4 Tinjauan Fitokimia

2.4.1 Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan di dalam jaringan tanaman. Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa fenolik dengan struktur kimia C₆-C₃-C₆. Kerangka flavonoid terdiri atas satu cincin aromatic A, satu cincin aromatic B, dan cincin tengah berupa heterosiklik yang mengandung oksigen dan bentuk teroksidasi cincin ini dijadikan dasar pembagian flavonoid ke dalam sub-sub kelompoknya. Sistem penomoran digunakan untuk membedakan posisi karbon di sekitar molekulnya. Flavonoid berperan sebagai antioksidan dengan cara mendonasikan atom hidrogennya atau melalui kemampuannya mengkelat logam, berada dalam bentuk glukosida (mengandung rantai samping glukosa) atau dalam bentuk bebas yang disebut aglikon (Redha, 2010).

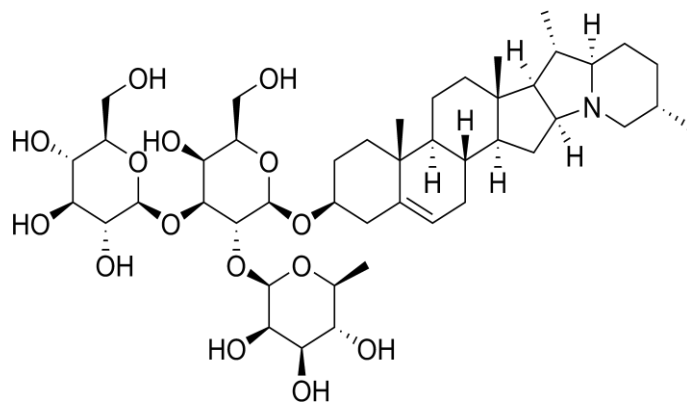


Gambar 2. Senyawa flavonoid

Sumber: Redha, 2010

2.4.2 Saponin

Saponin merupakan golongan senyawa glikosida, dapat membentuk larutan koloidal dalam air dan membuih bila cocok. Saponin memberikan rasa pahit menusuk. Saponin bersifat iritator pada selaput lender, sehingga memunculkan respon bersin. Saponin merupakan antioksidan sekunder, mampu menghambat peroksidasi lipid dengan cara membentuk hidroperoksida. Saponin berfungsi sebagai antioksidan melalui mekanisme peningkatan pembentukan SOD dan katalase (Anggraito *et al.*, 2018). Saponin mempunyai bagian utama berupa turunan triterpene dengan sedikit steroid. Residu gula dihubungkan oleh gugus -OH biasanya C3-OH dari aglikon (monodesmosida saponin) dan jarang dengan 2 gugus OH atau satu gugus OH dan satu gugus karboksil (bis-desmisida saponin) (Mustarichie dkk., 2011).



Gambar 3. Senyawa saponin

Sumber: Noer *et al.*, 2018

2.5 Radikal bebas

2.5.1 Definisi Radikal Bebas

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang tidak stabil dan sangat reaktif karena mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya. Untuk mencapai kestabilan atom atau molekul, radikal bebas akan bereaksi dengan molekul disekitarnya untuk memperoleh pasangan elektron. Sehingga radikal bebas bersifat toksik terhadap molekul biologi atau sel. (Erlidawati, 2018). Senyawa yang mudah teroksidasi secara umum adalah senyawa yang berikatan kovalen. Ikatan kovalen akan sangat berbahaya karena ikatan yang digunakan secara Bersama-sama pada orbital terluarnya. Radikal bebas memiliki reaktivitas yang tinggi, yaitu sifatnya yang sangat menarik atau menyerang elektron disekelilingnya. Senyawa radikal bebas juga dapat mengubah suatu molekul menjadi radikal bebas.

Radikal bebas juga berperan dalam proses penuaan. Radikal bebas dapat dihasilkan dari hasil sintesis tubuh dan faktor eksternal seperti asap, hasil penyinaran ultra violet, zat kimiawi dalam makanan dan polutan lain. Tubuh manusia dapat menetralsir radikal bebas jika diberikan tidak berlebihan. Pembentukan radikal bebas akan meningkat seiring dengan bertambahnya usia. Oleh karena itu tubuh memerlukan suatu substansi penting yaitu antioksidan yang dapat membantu melindungi tubuh dari serangan radikal bebas maupun senyawa radikal (Weldhasari, 2014).

Radikal bebas memiliki 2 sifat yaitu :

1. Reaktivitasnya yang tinggi karena akan cenderung menarik elektron dari senyawa yang lainnya.
2. Memiliki kemampuan untuk mencegah suatu molekul, atom, atau senyawa untuk menjadi suatu radikal bebas baru.

2.5.2 Pembentukan Radikal Bebas

Radikal dengan kereaktifan yang tinggi dapat memulai sebuah reaksi berantai dalam sekali pembentukannya sehingga menimbulkan senyawa yang tidak normal dan reaksi berantai dapat merusak sel-sel penting dalam tubuh (Badarinath, *et al.*, 2010).

Mekanisme reaksi pembentukan radikal bebas dibagi menjadi 3 tahapan reaksi yaitu:

1. Tahap inisiasi

Tahap inisiasi akan menghasilkan suatu zat antara yang sangat reaktif, disebabkan karena adanya elektron yang tidak berpasangan pada biji terluar.

Reaksi ini terjadi melalui pemecahan rantai homolitik (yang memerlukan cahaya atau cahaya) sehingga membentuk radikal.

2. Tahap propagasi

Tahap propagasi adalah perpanjangan rantai radikal, tahap ini mengawali sederetan reaksi yang menyebabkan terbentuk radikal bebas baru. Jumlah berulangnya tahap propagasi disebut rantai Panjang (chain length).

3. Tahap terminasi

Tahap terminasi adalah tahap dimana reaksi yang berujung pada turunya jumlah radikal bebas yang diakibatkan oleh adanya penggabungan radikal bebas yang masih tersisa. Pada tahap ini merupakan tahap akhir dari reaksi radikal bebas yang tidak reaktif dan stabil. Terjadi reaksi coupling atau penggabungan dua radikal membentuk produk non radikal.

2.6 Antioksidan

2.6.1 Pengertian Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa kimia yang dapat menyumbangkan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas, sehingga aktivitas radikal bebas tersebut dapat diredam (Suhartono, 2002). Molekul antioksidan akan bereaksi dengan radikal bebas (R^*) dan membentuk molekul yang tidak reaktif (RH) sehingga reaksi berantai pembentukan radikal bebas dapat dihentikan (parwata, 2015). Antioksidan juga mampu menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif sehingga kerusakan sel dapat dicegah. Reaksi oksidasi dengan radikal bebas sering terjadi pada molekul protein, asam nukleat, lipid dan polisakarida (Sayuti dkk, 2015).

Berdasarkan sumbernya, antioksidan terdiri dari beberapa jenis sebagai berikut (Kate, 2014) :

1. Antioksidan alami, yaitu antioksidan yang diperoleh dari bahan alam, merupakan senyawa metabolit sekunder dari tumbuhan seperti senyawa golongan alkaloid, fenolik, flavonoid.
2. Antioksidan sintetik, yaitu antioksidan alami yang telah diproduksi secara sintesis untuk tujuan komersial.

Menurut winarsi (2007). Berdasarkan fungsinya terdapat beberapa jenis antioksidan yaitu :

- a. Antioksidan primer (Antioksidan enzimatis), disebut juga antioksidan enzimatis. Antioksidan primer bekerja dengan cara mencegah pembentukan senyawa radikal bebas baru, atau mengubah radikal bebas yang telah terbentuk menjadi molekul yang kurang reaktif.
- b. Antioksidan sekunder (Antioksidan Non Enzimatis), bekerja dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas atau dengan cara menangkapnya.
- c. Antioksidan tersier, meliputi sistem enzim. Enzim berfungsi dalam perbaikan sel yang rusak akibat reaktivitas radikal bebas. Contoh antioksidan tersier yaitu enzim metionin sulfoksidan.

Berdasarkan sasarannya, terbagi menjadi dua yaitu sebagai berikut (Kate, 2014) :

1. Preventive antioxidant, yaitu antioksidan yang bekerja mencegah terbentuknya oksidan dan mencegah tertimbunnya oksidan.

2. Chain-breaking antioxidant, mekanisme kerjanya yaitu antioksidan akan mencegah terjadinya tahap inisiasi dan tahap propagasi.

Berdasarkan sifat fisiko-kimia, terbagi menjadi dua (Kate, 2014):

1. Antioksidan hidrofilik, merupakan antioksidan yang bekerja dalam sitosol dan cairan ekstrasel. Contohnya vitamin C, asam urat, glutathione, sistein, kreatinin.
2. Antioksidan lipofilik, merupakan antioksidan yang bekerja pada membrane sel. Contohnya vitamin E, β -karoten, bilirubin, protein pengikat logam (transferrin, laktoferin, seruplasmin, dan albumin).

2.6.2 Metode Pengujian Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dapat dilakukan dengan beberapa metode yaitu:

a. Metode DPPH

Metode DPPH merupakan metode yang cepat, sederhana, dan tidak membutuhkan biaya tinggi dalam menentukan kemampuan antioksidan menggunakan radikal bebas 2,2-diphenyl-1 picrylhydrazal (DPPH). Metode ini sering digunakan untuk menguji senyawa yang berperan sebagai free radikal scavengers atau donor hydrogen dan mengevaluasi aktivitas antioksidannya, serta mengkuantifikasi jumlah kompleks radikal-antioksidan yang terbentuk. Metode DPPH dapat digunakan untuk sampel yang berupa padatan maupun cairan (Zakky, 2017).

DPPH merupakan singkatan umum untuk senyawa kimia organik yaitu 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil. DPPH adalah bubuk kristal berwarna gelap terdiri dari

molekul radikal bebas yang stabil. DPPH mempunyai berat molekul 394.32 dengan rumus molekul $C_{18}H_{12}N_5O_6$, larut dalam air penyimpanan dalam wadah tertutup baik pada suhu 20°C.

Uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode ini dapat diamati berdasarkan hilangnya warna ungu akibat tereduksinya DPPH oleh antioksidan. Intensitas warna dari larutan uji diukur melalui spektrofotometri UV-Vis pada Panjang gelombang sekitar 517 nm. Hasil persen (%) inhibisi (penghambatan) disubstitusikan dalam persamaan linier kemudian diinterpretasikan oleh IC_{50} . Persen inhibisi adalah perbandingan antara selisih dari absorbansi blanko dan absorbansi sampel dengan absorbansi blanko. (Erlidawati, 2018).

Persen inhibisi digunakan untuk menentukan persentase hambatan dari satu bahan yang dilakukan terhadap senyawa radikal bebas. IC_{50} didefinisikan sebagai jumlah antioksidan yang diperlukan untuk menurunkan konsentrasi awal DPPH sebesar 50%. Pada metode ini memiliki keuntungan, yaitu lebih sederhana dan waktu analisis yang lebih cepat (Erlidawati, 2018).

Table 1. Tingkat Kekuatan Antioksidan dengan Metode DPPH

Intensitas	Nilai IC_{50}
Sangat kuat	<50 ppm
Kuat	50-100 ppm
Sedang	101-250 ppm
Lemah	>250 ppm

a. Metode DPPH

Merupakan metode yang sederhana, cepat dan mudah untuk penapisan aktivitas penangkapan radikal beberapa senyawa, selain itu metode ini terbukti akurat, efektif dan praktis (Molyneux, 2004).

b. Metode FRAP

Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) didasarkan atas kemampuan senyawa antioksidan dalam mereduksi senyawa besi (III)-tripiridil-triazin menjadi besi(II)-tripiridil-triazin pada Ph 3,6

c. Metode CUPRAC

Pada metode CUPRAC (*Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity*), kompleks bisneokuproin-tembaga(II) akan mengoksidasi senyawa antioksidan dalam ekstrak tanaman dan mengalami reduksi membentuk kompleks bisneokuproin-tembaga (I). Secara visual hal ini dapat dilihat dari perubahan warna kompleks larutan dari biru toska menjadi kuning. Pereaksi CUPRAC merupakan pereaksi yang selektif karena memiliki nilai potensial reduksi yang rendah, yaitu sebesar 0,17 V (Niken, 2010).

2.7 Sun protection Faktor (SPF)

SPF (Sun Protection Faktor) merupakan parameter efektivitas suatu sediaan tabir surya dapat ditunjukkan salah satunya adalah dengan nilai SPF. Semakin besar nilai SPF, maka semakin besar perlindungan yang diberikan. Nilai SPF suatu produk menyatakan perbandingan antara waktu yang dibutuhkan radiasi UV-B dan UV-A untuk menimbulkan eritema pada kulit yang terlindungi dengan waktu yang dibutuhkan oleh kulit yang tidak terlindungi untuk menyebabkan eritema dengan tingkatan yang sama (Stanfield, 2003). SPF didefinisikan sebagai *Minimal*

erythema dose (MED) pada kulit yang dilindungi oleh sediaan tabir surya dibagi dengan (MED) pada kulit yang tidak dilindungi oleh sediaan tabir surya (Kaur, 2010). MED didefinisikan sebagai jangka waktu terendah atau dosis radiasi sinar UV yang dibutuhkan untuk menyebabkan terjadi erythema. (Wood & Murphy, 2000).

Nilai SPF dapat ditentukan secara *in vitro* dengan menggunakan metode spektrofotometri (Asriani, 2016). Metode pengukuran nilai SPF secara *in vitro* secara umum terbagi dalam dua tipe. Tipe pertama adalah dengan mengukur serapan atau transmisi radiasi UV melalui lapisan produk tabir surya pada plat kuarsa atau biomembran. Tipe yang kedua adalah dengan menentukan karakteristik serapan tabir surya menggunakan analisis spektrofotometri larutan hasil pengenceran tabir surya yang diuji (kaur & Saraf, 2010; Dutra, 2004).

Table 2.2. Keefektifan Sediaan Tabir Surya Berdasarkan Nilai SPF

SPF	Kategori Proteksi tabir surya
2-4	Proteksi minimal
4-6	Proteksi sedang
6-8	Proteksi ekstra
8-15	Proteksi maksimal
≥ 15	Proteksi ultra

[sumber: Wilkinson & Moore, 1982]

2.8 Spektrofotometer UV- Vis

Spektrofotometri UV- Vis adalah pengukuran absorbansi energi cahaya oleh suatu molekul pada suatu Panjang gelombang tertentu untuk tujuan Analisa kualitatif dan kuantitatif. Sinar ultraviolet mempunyai Panjang gelombang antara 200-400 nm, dan sinar tampak atau visible mempunyai Panjang gelombang antara 400-750 nm, (Rohman, 2007). Beberapa hal yang harus diperhatikan dalam analisis

dengan spektrofotometri UV-Vis terutama untuk senyawa yang semula tidak berwarna yang akan dianalisis dengan spektrofotometri visible karena senyawa tersebut harus diubah terlebih dahulu menjadi senyawa yang berwarna (Rohman, 2007).

2.8.1 Bagian-bagian Spektrofotometri UV- Vis (Watson, 2009)

Spektrofotometer terdiri dari beberapa komponen sehingga dapat digunakan untuk mengidentifikasi sampel yaitu:

1. Sumber cahaya

Sumber cahaya pada spektrofotometer harus memiliki pancaran radiasi yang stabil dan intensitasnya tinggi. Sumber cahaya pada spektrofotometer UV-Vis ada dua macam:

a. Lampu Tungsten (Wolfram)

Lampu ini digunakan untuk mengukur sampel pada daerah tampak. Bentuk lampu ini mirip dengan bola lampu pijar biasa. Memiliki Panjang gelombang antara 350-900 nm. Spektrum radiasinya berupa garis lengkung.

b. Lampu Deuterium

Lampu ini dipakai pada Panjang gelombang 190-350 nm. Spektrum energi radiasinya lurus, dan digunakan untuk mengukur sampel yang terletak pada daerah UV.

2. Monokromator

Monokromator adalah alat yang akan memecah cahaya polikromatis menjadi cahaya tunggal (monokromatis) dengan komponen Panjang gelombang tertentu. Bagian-bagian monokromator, ialah:

a. Prisma

Prisma akan mendispresikan radiasi elektromagnetik sebesar mungkin supaya di dapatkan resolusi yang baik dari radiasi polikromatis.

b. Grating (kisi difraksi)

Kisi difraksi memberi keuntungan lebih bagi proses spektroskopi. Dispersi sinar akan disebarkan merata, dengan pendispersi yang sama, hasil dispersi akan lebih baik. Selain itu kisi difraksi dapat digunakan dalam seluruh jangkauan spektrum.

c. Celah optis

Celah ini digunakan untuk mengarahkan sinar monokromatis. Apabila celah berada pada posisi yang tepat, maka radiasi akan dirotasikan melalui prisma, sehingga diperoleh Panjang gelombang yang diharapkan.

d. Filter

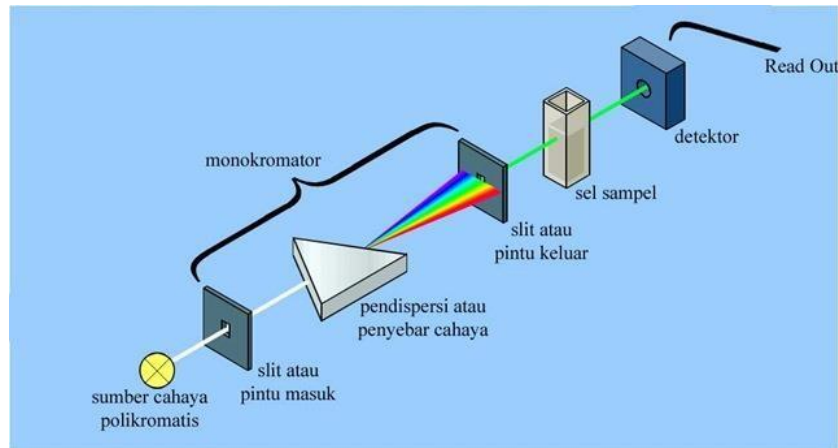
Berfungsi untuk menyerap warna komplementer sehingga cahaya yang diteruskan merupakan cahaya berwarna yang sesuai dengan Panjang gelombang yang dipilih.

3. Detektor

Menangkap sinar yang diteruskan oleh larutan yang diubah dengan menjadi sinar listrik oleh amplifer dan akan ditampilkan dalam bentuk angka-angka pada reader (komputer).

4. Visual display/recorder

Merupakan system baca yang memperlihatkan besarnya isyarat listrik, dinyatakan dalam bentuk % transmittan maupun absorbansi. (Watson, 2009).



Gambar 5. Skema alat spektrofotometer UV-Vis (Watson, 2009)

2.8.2 Prinsip Kerja Spektrofotometri UV-Vis

Sumber cahaya yang berasal dari lampu deuterium ataupun lampu tungsten yang bersifat polikromatis akan diteruskan melalui celah menuju ke monokromator pada spektrofotometer dan filter cahaya pada fotometer. Monokromator kemudian akan mengubah cahaya polikromatis (banyak) menjadi cahaya monokromatis (tunggal). Berkas-berkas cahaya dengan Panjang tertentu kemudian akan dilewatkan pada sampel yang mengandung suatu zat dalam konsentrasi tertentu. Oleh karena itu, terdapat cahaya yang diserap (diabsorpsi) dan ada pula cahaya yang dilewatkan, Cahaya yang dilewatkan ini kemudian diterima oleh detektor. Detektor kemudian akan menghitung cahaya yang diterima dan mengetahui cahaya yang diserap oleh sampel. Cahaya yang diserap sebanding dengan konsentrasi zat yang terkandung dalam sampel sehingga akan diketahui konsentrasi zat dalam sampel secara kuantitatif (Dachriyanus, 2004).

BAB III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan selama $\pm$ 5 bulan di Laboratorium Universitas Perintis Indonesia.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah seperangkat alat *rotary evaporator*, spektrofotometer UV-Vis, botol maserasi atau bejana berwarna gelap, labu ukur, beaker glass, vial, pipet, kertas saring, lampu spiritus, timbangan analitik, kertas saring, waterbath, sudip, spatel, lumping kayu, aluminium foil, pipet gondok dan pompanya, pipet mikro, dan peralatan gelas lainnya yang umum di laboratorium.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan adalah biji buah markisa konyal (*Passiflora ligularis* f. *lobata*), etanol 96%, etanol 70%, metanol, n-heksa, etil asetat, kloroform, kloroform amoniak, aquadest, FeCl_3 , 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH), H_2SO_4 pekat, Reagen mayer, aquadest.

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan adalah biji buah markisa konyal sebanyak 300 g yang diambil di daerah Alahan Panjang Kecamatan Lembah Gumanti Solok Provinsi Sumatera Barat.

3.3.2 Identifikasi Tumbuhan

Identifikasi tumbuhan dilakukan untuk memastikan jenis tanaman yang digunakan dalam penelitian. Identifikasi penelitian markisa konyal dilakukan di Herbarium Universitas Andalas, jurusan Biologi, Fakultas Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA), Padang, Sumatera Barat.

3.3.3 Penyiapan Sampel

Buah markisa konyal segar diambil sebanyak 10 kg, kemudian dipisahkan antara kulit dan biji buah, biji buah markisa basah. Lalu biji dan selaput markisa dipisah menggunakan saringan santan agar pemisahan biji dan selaput markisa lebih mudah dan cepat. Setelah itu biji buah markisa dicuci bersih dengan air, yang bertujuan untuk membersihkan biji buah dari selaput yang ada pada biji buah. Selanjutnya biji buah dikering anginkan selama kurang lebih 7 hari. Setelah kering ditimbang berat biji kemudian sampel ditimbang kembali untuk dijadikan simplisia. Biji buah ditumbuh kasar menggunakan lumpang kayu.

3.4 Pembuatan Ekstrak

Ekstrak biji buah markisa konyal dibuat dengan cara maserasi. Serbuk simplisia dimasukkan ke dalam botol maserasi, direndam dengan pelarut etanol

70% selama 48 jam sampel sesekali diaduk. Setelah perendaman, saring untuk mendapat maseratnya dan ampasnya direndam lagi dengan etanol 96% selama 48 jam. Proses maserasi ini diulang sebanyak 3x untuk mengoptimalkan penarikan senyawa metabolit sekunder yang ada pada sampel. Gabungan semua maserat yang didapatkan, lalu dipekatkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental (Badan POM RI, 2004).

Timbang sampel basah (biji markisa), kemudian hasil ekstrak yang diperoleh ditimbang Kembali. Hitung rendemen.

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{Berat serbuk simplisia kering}} \times 100\%$$

3.4.1 Penentuan Rendemen Fraksi Etil Asetat Biji Markisa Konyal

Timbang fraksi etil asetat biji markisa konyal kemudian hasil fraksinasi yang diperoleh ditimbang Kembali. Hitung rendemen dengan rumus:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat fraksi yang diperoleh}}{\text{Berat ekstrak yang digunakan}} \times 100\%$$

3.4.2 Fraksinasi Ekstrak Biji Markisa Konyal

Fraksi etil asetat biji markisa konyal sebanyak 20 gram difraksinasi menggunakan n-heksan serta air dengan perbandingan (1:1) sebanyak 200 mL kedalam corong pisah 250 ml, kemudian dikocok selama 30 menit, setelah dikocok diamkan dan tunggu sampai terlihat dua lapisan yaitu lapisan n-heksan dan lapisan air. Ambil lapisan atas (n-heksan) kemudian ulang lagi sampai lapisan n-heksan terlihat jernih.

Lapisan air kemudian difraksinasi dengan etil asetat sebanyak (100 ml) kedalam corong pisah 250 ml, kemudian dikocok selama 30 menit, setelah dikocok diamkan dan tunggu sampai terlihat dua lapisan yaitu lapisan etil asetat dan lapisan air. Ambil lapisan atas (etil asetat) kemudian ulangi sampai lapisan etil asetat terlihat jernih (fraksi etil asetat). Hasil fraksi etil asetat diuapkan dengan *Rotary evaporator*.

3.5 Evaluasi Fraksi Etil Asetat Biji Markisa Konyal

Fraksi etil asetat biji markisa konyal dilakukan karakteristik dengan parameter sebagai berikut:

1. Pemeriksaan Organoleptis

Pemeriksaan organoleptis bertujuan untuk mengetahui karakteristik fraksi etil asetat biji markisa konyal maka identifikasi dilakukan dengan pengamatan secara visual meliputi bentuk, warna, dan bau.

2. Pemeriksaan Susut Pengerinan

Bersihkan krus porselen lalu keringkan krus porselen dan tutupnya di dalam oven pada suhu 105⁰C selama 30 menit. Dinginkan di dalam desikator, lalu ditimbang beratnya. Masukkan fraksi etil asetat ke dalam krus sebanyak 1-2 gram. Krus porselen yang berisi sampel dimasukkan ke dalam oven pada suhu 105⁰C buka tutupnya dan biarkan tutup tetap berada di dalam desikator selama 10-15 menit lalu ditimbang. Lakukan pengulangan seperti cara di atas hingga diperoleh berat yang konstan.

$$\% \text{ Susut Pengerinan} = \frac{(B-A)-(C-A)}{(B-A)} \times 100\%$$

Keterangan :

A = Berat krus kosong (gram)

B = Berat krus + sampel sebelum dipanaskan (gram)

C = Berat krus + sampel setelah dipanaskan (gram)

3. Kadar abu

Fraksi etil asetat ditimbang sebanyak 2 gram dimasukkan ke dalam krus porselen yang telah dipijarkan kemudian diratakan. Pijarkan perlahan hingga arang habis, dinginkan di dalam desikator dan timbang beratnya. Kemudian arang tersebut dimasukkan ke dalam *furnace* selama 4 jam pada suhu 600° C, hingga terbentuk abu, dinginkan dalam desikator dan timbang berat abu yang didapatkan. Kadar abu dihitung menggunakan rumus (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2008).

$$\% \text{ Kadar abu} = \frac{C-A}{B-A} \times 100\%$$

Keterangan:

A = Berat krus kosong (gram)

B = Berat krus + sampel sebelum dipanaskan (gram)

C = Berat krus + sampel setelah dipanaskan (gram)

3.5.1 Uji Skrining Fitokimia

Timbang fraksi etil asetat biji markisa konyal sebanyak 0,5 gram, kemudian masukkan kedalam tabung reaksi. Lalu tambahkan kloroform dan air masing-masingnya 5 ml dengan perbandingan (1:1) kemudian kocok kuat dan biarkan sejenak hingga terbentuk 2 lapisan yaitu lapisan air dan kloroform. Kedua lapisan yang terbentuk dipisahkan. Lapisan bagian atas (air) digunakan untuk pengujian senyawa flavonoid, fenolik dan saponin. Lapisan bagian bawah (kloroform) digunakan untuk pengujian senyawa steroid dan terpenoid.

a. Uji Flavonoid

Letakan 1-2 tetes lapisan air pada plat tetes, ditambahkan sedikit logam Magnesium (Mg) dan 1-2 tetes HCl pekat. Positif flavonoid apabila terbentuk warna kuning-jingga sampai merah menunjukkan adanya senyawa flavonoid.

b. Uji Fenolik

Letakan 1-2 tetes lapisan air pada plat tetes, kemudian tambahkan 1-2 tetes pereaksi FeCl_3 , terbentuknya warna hijau, merah, biru atau hitam yang kuat menandakan adanya kandungan fenolik.

c. Uji Saponin

Lapisan air dimasukkan dalam tabung reaksi kemudian dikocok, apabila terbentuk busa yang permanen (± 15 menit) menunjukkan adanya saponin.

d. Uji Terpanoid dan steroid

Diambil sedikit lapisan kloroform ditambahkan nourit kemudian disaring, hasil saringan dipipet 2-3 tetes dan biarkan mengering pada plat tetes, setelah kering tambahkan asam asetat anhidrat, ditambahkan 1 tetes H_2SO_4 pekat, jika terbentuknya warna biru ungu menandakan adanya steroid, sedangkan bila terbentuk warna merah menandakan adanya terpenoid.

e. Uji Alkaloid

Sebanyak 2-3 tetes lapisan kloroform ditambahkan dengan 1 mL kloroform amoniak dan 1 tetes asam sulfat 2 N kemudian kocok kuat dan diamkan sampai terbentuk dua lapisan, ambil lapisan asam (lapisan atas) lalu tambahkan 1-2 tetes

pereaksi mayer, reaksi positif alkaloid ditandai dengan adanya kabut putih hingga gumpalan putih.

3.6 Pembuatan Reagen

a. Pembuatan Larutan Induk Asam galat 500 ppm

Sebanyak 12,5 mg asam galat dimasukkan kedalam labu ukur 25 ml dilarutkan dengan metanol sampai tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi larutan 500 µg/ml. (Waterhause, 1999).

b. Pembuatan Larutan DPPH (2,2 Diphenyl-1-picrylhydrazyl) 35 ppm

Timbang 10 mg DPPH masukkan kedalam labu ukur 100 ml, lalu tambahkan metanol sampai tanda batas. Kemudian dipipet sebanyak 17,5 ml larutan DPPH masukkan kedalam labu ukur 50 ml, lalu tambahkan metanol sampai tanda batas hingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 35 ppm (Molyneux, 2004).

c. Pembuatan Larutan Sampel

Sebanyak 25 mg dari Fraksi Etil Asetat biji markisa dilarutkan dengan 0,5 ml metanol, kemudian tambahkan dengan aquadest sampai volume pada labu ukur menjadi 25 ml, sehingga diperoleh larutan induk ekstrak 1000 ppm.

3.7 Penentuan Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

1. Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum DPPH

Dipipet sebanyak 4 ml larutan DPPH 35 ppm dipipet kemudianditambahkan 2 mL campuran metanol dan aquadest (1:1), larutan dihomegenkan dan diamkan 30 menit di tempat yang gelap. Ukur Panjang gelombang serapan

maksimum pada Panjang gelombang 400-800 nm dengan spektrofotometer UV-Vis.

2. Penentuan Aktivitas antioksidan Standar Asam Galat

Dipipet 5 ml larutan induk asam galat (500 ppm), kemudian dilarutkan dalam campuran metanol dan aquadest (1:1) dalam labu ukur 100 ml sampai tanda batas, sehingga diperoleh larutan standar asam galat dengan konsentrasi 25 ppm. Dari larutan ini, masing-masing dipipet (1; 2; 3; 4; 5) ml masukkan kedalam labu ukur 25 ml, lalu tambahkan campuran metanol dan aquadest (1:1) sampai tanda batas hingga diperoleh konsentrasi (1; 2; 3; 4; 5) ppm.

Dipipet masing-masing larutan 2 ml, lalu masukkan kedalam vial, tambahkan 4 ml larutan DPPH 35 ppm. Diamkan selama 30 menit ditempat gelap. Ukur serapan dengan spektrofotometer UV-Vis pada Panjang gelombang serapan maksimum dan tentukan aktivitas antioksidan dengan menghitung % inhibisi (hambatan) (pourmorad dkk, 2006).

3. Penentuan Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Biji Markisa (Mosquera dkk, 2007).

Ditimbang 25 mg fraksi etil asetat, kemudian dilarutkan dengan metanol dalam labu ukur 25 ml sampai tanda batas hingga diperoleh larutan standar konsentrasi 1000 ppm. Dari larutan standar 1000 ppm dipipet 10 ml, kemudian dimasukan kedalam labu ukur 100 ml ad metanol sampai tanda batas, kemudian diperoleh larutan standar 100 ppm masing-masing dipipet (0,5; 1; 1,5; 2; 2,5) ml. kemudian tambahkan metanol : aquadest (1:1) dalam labu ukur 10 ml sampai tanda batas. Sehingga diperoleh sampel dengan konsentrasi (5; 10; 15; 20; 25) ppm.

Pipet masing-masing konsentrasi sebanyak 2 ml. larutan sampel dengan menggunakan pipet mikro dan masukkan kedalam vial, kemudian tambahkan 4 ml DPPH 35 µg/ml. Campuran dihomogenkan dan biarkan selama 30 menit ditempat gelap, ukur serapan dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada Panjang gelombang serapan maksimum. Tentukan aktivitas antioksidan dengan menghitung % inhibisi dan IC₅₀

3.8 Analisa Data

3.8.1 Penentuan Aktivitas Antioksidan Fraksi Biji Markisa konyal

Aktivitas antioksidan sampel ditentukan dari besaran hambatan serapan radikal DPPH melalui perhitungan persentase inhibisi serapan DPPH.

a. % Inhibisi

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{(\text{Absorban kontrol} - \text{Absorban sampel})}{\text{Absorban Kontrol}} \times 100\%$$

Keterangan:

Absorban Kontrol : Serapan larutan radikal DPPH 35µg/ml.

Absorban sampel : Serapan larutan sampel ditambah larutan DPPH 35µg/ml.

b. Nilai IC₅₀

IC₅₀ adalah konsentrasi yang dapat atau mampu menghambat proses oksidasi sebesar 50% yang dapat dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linier yang diperoleh. Untuk menentukan IC₅₀ diperlukan persamaan kurva standar dari persen inhibisi sebagai sumbu y dan konsentrasi ekstrak antioksidan sebagai sumbu x. Nilai IC₅₀ dihitung dengan cara memasukkan nilai 50% kedalam persamaan kurva standar sebagai sumbu y kemudian dihitung nilai x sebagai konsentrasi IC₅₀.

Semakin kecil nilai IC₅₀ didapatkan semakin tinggi aktivitas antioksidannya (Molyneux, 2004).

Table III. Tingkat Kekuatan Antioksidan (Suratmo, 2009)

Intensitas Antioksidan	Nilai IC₅₀
Sangat kuat	<50 ppm
Kuat	50-100 ppm
Sedang	100-250 ppm
lemah	251-500 ppm

3.8.2 Penentuan Nilai SPF (*Sun Protection Faktor*)

Penentuan nilai SPF pada fraksi etil asetat biji markisa konyal digunakan konsentrasi 200, 400, 600 ppm yang dibuat dari larutan induk sampel 1000 ppm. untuk mendapatkan konsentrasi 200, 400, 600 ppm, larutan induk dipipet sebanyak 2 ml, 4 ml, dan 6 ml, kemudian dimasukan kedalam labu ukur 10 ml ad kan dengan metanol sampai tanda batas. Larutan ini di ukur absorbannya menggunakan Spektrofotometer UV-Vis dikalibrasi terlebih dahulu menggunakan metanol. Absorbansi dari setiap larutan sampel diukur pada daerah Panjang gelombang 290-320 nm dengan interval 5 nm. Metanol digunakan sebagai blangko. Hasil absorbansi digunakan untuk menghitung nilai SPF (*Sun Protection Faktor*) dengan persamaan sebagaimana dalam mansur (1986).

$$SPF = CF \times \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \times I(\lambda) \times absorban(\lambda)$$

Keterangan :

- EE : Spektrum efek eritema
- I : Intensitas spektrum sinar
- A : Serapan produk tabir surya
- CF : Faktor koreksi (10)

Nilai $EE \times 1$ adalah suatu ketetapan atau konstan. Ditentukan oleh Mansur dkk, (1986) pada tabel berikut:

Panjang Gelombang (nm)	EE x 1
290	0,0150
295	0,0817
300	0,2874
305	0,3278
310	0,1864
315	0,0839
320	0,0180
Total	1

DAFTAR PUSTAKA

- Abdul, Rohman. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Anggraito, Y. U., Susanti, R., Iswari, R. S., Yuniastuti, A., Lisdiana, WH, N., Habibah, N. A., & Bintari, S. H. (2018). *Metabolit Sekunder Dari Tanaman*. FMIPA Universitas Negeri Semarang.
- Anggraini, Ayu. 2022. *Penetapan Kadar Fenolat Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Markisa Konyal (Passiflora ligularis F. lobalata) Menggunakan Spektrometri UV-Vis, Skripsi*. Padang: Fakultas Farmasi Universitas Perintis Indonesia .
- Armin, F., Ermadani, dan R. Rasyid. 2014. Analisis senyawa fenolat dan uji aktivitas antioksidan buah markisa (*Passiflora edulis sims*) secara spektrofotometri visible. *Jurnal Farmasi Higea*. 6(2):117-128.
- Asriani, N. 2016. *Stabilitas Fisik dan Aktivitas Krim O/W Ekstrak Etanolik Rimpang Temu Putih (Curcuma zedoaria (Berg.) Roscoe) Sebagai Tabir Surya secara In vitro, Skripsi*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.
- Badarinath A, Rao K, Chetty CS, Ramkanth S, Rajan T, & Ginanaprakash K.A. 2010. *Review on In vitro Antioxidant Methods: Comparisons, Correlation, and Consideration. International Journal of Pharm Tech Research*.
- Cahyono B. 2017. *Meraih Keuntungan dari Berkebun Markisa Budi Daya Intensif Pertanian organic dan Anorganik*. Bandung: Srikandi Empat
- Dachriyanus. 2004. *Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektroskopi. Cetakan Pertama*. Padang: Universitas Andalas.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan: Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI., 1995. *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Departemen Kesehatan RI: Jakarta Hal 7.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1999. *Indonesia Sehat 2010, Visi Baru, Misi Kebijaksanaan dan strategi Pembangunan Kesehatan*, Jakarta.
- Direktorat Pengawasan Obat Tradisional. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Cetakan Pertama. In Departemen Kesehatan Republik Indonesia*.
- Dutra, Elizangela Abreu. (2004). Determination of Sun Protection Factor (SPF) of Sunscreen by Ultraviolet Spectrophotometry. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* 40, 381-384.

- Erlidawati. Ajmi. Abdul gani. 2017. *Uji Aktivitas Antioksidan Gulma Siam (Chromolaena odorata L.) Dengan Metode 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil.* (Jippi) 1(2):132-142
- Faleiro, F. G., Junqueira, N. T. V., Junghans, T. G., de Jesus, O. N., Miranda, D., & Otoni, W. C. (2019). Advances in passion fruit (*Passiflora* spp.) propagation. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 41 (2).
- Haeria, 2014. *Kimia Produk Alami*. Makassar: Alauddin University Press.
- Harborne, J. B. (1987). *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Mengekstraksi Tumbuhan (Kokasih Padmawinata & Iwang Soediro, Penerjemah.)*. Penerbit ITB.
- Karsinah, F, H. Silalahi, dan A. Manshur. 2008. Eksplorasi dan karakterisasi plasma nutfah. *Eksplorasi Dan Karakterisasi Plasma Nutfah Tanaman Markisa Karsinah.*, 4(2):115-121.
- Karsinah, F.H. Silalahi, A. Mansur. 2007. *Eksplorasi dan Karakterisasi Plasma Nutfah Tanaman Markisa; Balitro Solok Sumbar*. J. Hort. 17(4):297-306
- Kate, D. I. (2014). Penetapan Kandungan Fenolik Total dan Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Pikrilhidrazil) Ekstrak Metanolik Umbi Bidara Upas (*Merremia mammosa (Lour) Hallier f.*). *Skripsi*. Yogyakarta: Universitas Sanata Dharma.
- Kate, D. I. (2014). Penetapan Kandungan Fenolik Total dan Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Pikrilhidrazil) Ekstrak Metanolik Umbi Bidara Upas (*Merremia mammosa (Lour) Hallier f.*). *Journal Ilmiah*.
- Kaur, C. D. dan Saraf, S. (2010). *In Vitro Sun Factor Determination of Herbal Oils Used in Cosmetics*. Pharmacognocny Research 2, Issue 1, 22-25.
- Kementrian Kesehatan Republik Indonesia Edisi II. 2017. *Farmakope Herbal Indonesia*. Jakarta: Direktorat Jenderal Kefarmasian dan Alat Kesehatan.
- Mansur, J.S, Breder, M. N. R, Mansur, M. C. A, Azulary, R.D. 1986, Determination of Sun Protection Factor for Spectrophotometry, *An Bras Dermatol*, 62:121-124.
- Mosquera, O. M., Correa, Y. M., Buitrago, D. C. & Nino, J. 2007. *Antioxidant Activity of Twenty Five Plants from Colombian Biodeirvesity*. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. 102 (5):631-634
- Molyneux P. 2004. *The Use Of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity*. Songklanakarin. J. Sci. Technol. 26(2):211-219.

- Molyneux, P, 2004. *The Use Of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity*. Songklanakarin. J. Sci. Technol. 26 (2).
- Mustarichie Resmi, Musfiroh, dan Jutti Levita, 2011. *Metode Penelitian Tanaman Obat*. Bandung: Widya Pandjadjaran.
- Noer, S., Pratiwi, R. D., & Gresinta, E. (2018). Penetapan Kadar Senyawa Fitokimia (Tanin, Saponin Dan Flavonoid Sebagai Kuersetin) Pada Ekstrak Daun Inggu (*Ruta angustifolia* L.) *Jurnal Ilmu-Ilmu MIPA*, 18(1), 19-29
- Niken, W. 2010. *Pengukuran Aktivitas Antioksidan Dengan Metode Cuprac, Dpph, Dan Frap Serta Korelasinya Dengan Fenol Dan Flavonoid Pada Enam Tanaman*. Departemen Kimia Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor. Jurnal (hal 6)
- Nurmia, A, 2008, *Antioxidant Studies On Selected Lamiacea Herbs In Vitro And In Humans*, Yliopistopaino, University Print, Helsinki, Finland, 33
- Pitojo S, Purwantoyo E, Puspita H, dan Nira. 2010. *Teknik Budidaya dan Pasca Panen Markisa*. Semarang: Aneka Ilmu.
- Parwata IMAO. 2015. *Bahan Ajar Bioaktivitas Antioksidan*. Bali: Universitas Udayana
- Prakash A, 2008, Rigelhof F dan Miller E. 2001. *J. Antioxidant Activity*. Medalliaoan Laboratories. 19 (2): 1-4.
- Pourmorad F, Hosseinimehr S J, Shahabimajd N. 2006. Antioxidant Activity, Phenol and Flavonoid Contents of Some Selected Iranian Medicinal Plants. *African Journal of Biotechnology*. 5 (11): 1142-1145.
- Redha, A. (2010). Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif Dan Peranannya Dalam sistem Biologis. *Jurnal Belian*, 9(2), 196-202.
- Rukmana, R. (2003). *Usaha Tani Markisa*. Yogyakarta: Kanisius. Halaman 16.
- Santoso, M. dan Rosalina, W. 2009. *Albedo Markisa Konyal Sebagai Bahan Baku Pembuatan Kertas Dengan Metode Organosolv*. Prosiding Seminar Kimia Bersama UKM-ITB VIII. Bandung: ITB.
- Rukman, R. 2003. *Usaha Tani Markisa*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius. 56 hal. Sari
- TM, Fera O, dan Yonedi Y. 2021. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Buah Markisa Konyal (*Passiflora ligularis* f. *lobata*). *Jurnal Katalisator*. 6(2):241-253.
- Sayuti K, Yenrina R. 2015. *Antioksidan Alami dan Sintetik*. Padang: Universitas Andalas.

- Siregar AE and Gultom T. 2018. Karakterisasi Morfologi Markisa (*Passiflora*) Di kabupaten Karo Sumatera Utara [Journal] // Prosiding Seminar Nasional Biologi dan Pembelajarannya
- Stanfield, J. W. 2003. Sun protectants: enhancing product functionality. *In*: Schueller, R. and P. Romanowski (eds.), Multifunctional cosmetics. Marcell Dekker Inc. New York. 145-150pp.
- Susanti, Yesi, Ika, & Putri, Widya Dwi Rukmi. (2014). Pembuatan Minuman Serbuk Markisa Merah (*Passiflora Edulis* F. *Edulis* Sims) (Kajian Konsentrasi Tween 80 Dan Suhu Pengeringan). *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 2(3), 170-179.
- Suhartono E, Fujiati AI. 2002. *Oxygen Toxicity by Radiation and Effect of Glutamic Piruvat Transamine (GPT) Activity Rat Plasma after Vitamine C Treatmen*. Diajukan pada International seminar Internasional. Yogyakarta.
- Watson D G. 2009. *Analisis Farmasi Edisi kedua*. EGC: Jakarta.
- Waterhouse A. 1999. *Follin-Ciocalteu Micro Method for Total Phenol in Wine*. Departement of Viticulture & Enology, Universitas Of California. Davis.
- Weldhasari, A, 2014 '*Peran Antioksidan bagi Kesehatan*', *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*, vol. 3, no. 2, hh. 59-68.
- Winarsi, H. (2007). *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Kanisius. Yogyakarta; hal 19-65
- Wood, C. & Murphy, E., 2000. Sunscreen Efficacy. *Glob. Cosmet. Ind.*, Duluth.
- Zakky C, Wahyu U. 2017. Aktivitas Penangkap Radikal Ekstrak Ethanol 70% Biji Jengkol (*Archidendron jiringa*) : Universitas Muhammdiyah Surakarta.

