

**PENENTUAN NILAI *SUN PROTECTION FACTOR*
(SPF) DARI EKSTRAK ETANOL DAUN DAN BIJI
BUAH MARKISA KONYAL**

DRAFT PROPOSAL



Oleh :

GHOZY ARRAHMAN

1904093

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS PERINTIS INDONESIA
2022**

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan Negara tropis yang terletak di sepanjang garis ekuator. Oleh karenanya masyarakat Indonesia sangat terpapar oleh radiasi ultraviolet. Radiasi sinar ultraviolet yang terdapat secara natural pada sinar matahari merupakan suatu radiasi elektromagnetik yang merupakan salah satu bentuk energi (Utami, 2009). Spektrum elektromagnetik daerah ultraviolet (UV), terbagi menjadi 3 bagian antara lain UV-A (320-400 nm), UV-B (290-320 nm) dan UV-C (200-290 nm). Efek berbahaya dari radiasi UV pada kulit berupa efek akut seperti kulit terbakar atau eritema, reaksi fototoksik, fotoalergi, dan fotosensitivitas serta efek kronis yaitu fotoaging, kanker kulit dan imunosupresi (Widyawati dkk., 2019).

Secara alami, kulit berusaha melindungi dirinya beserta organ di bawahnya dari bahaya sinar UV (Juliadi, 2020). Menurut Widyawati dkk (2019) salah satu cara untuk mengurangi dampak buruk dari paparan sinar matahari yaitu dengan penggunaan tabir surya dimana ini menjadi upaya awal perlindungan kulit dari paparan sinar matahari secara langsung. Tabir surya dapat melindungi kulit dengan cara menyerap sinar UV serta memantulkan atau membelokkan radiasi UV. Kemampuan suatu bahan sebagai tabir surya dapat diukur sebagai nilai *Sun Protection Factor* (SPF). Sun Protection Factor adalah perbandingan antara energi radiasi UV yang dibutuhkan untuk menimbulkan eritema minimal pada kulit yang terlindung oleh suatu tabir surya dengan energi radiasi UV yang dibutuhkan untuk menimbulkan eritema minimal pada kulit tanpa tabir surya (Mansuri dkk, 2021). Nilai SPF berkisar antara 0 sampai 100, dan kemampuan tabir surya yang

dianggap baik berada di atas 15. Menurut FDA (Food Drug Administration), pembagian kemampuan tabir surya adalah minimal (SPF antara 2-4), sedang (SPF antara 4-6), Ekstra (SPF antara 6-8), maksimal (SPF antara 8-15) dan ultra (SPF lebih dari 15).

Tanaman markisa konyal merupakan salah satu tanaman yang banyak digunakan oleh masyarakat dan di Indonesia terdapat beberapa spesies, antara lain markisa konyal (*Passiflora ligularis* Juss.), markisa ungu (*Passiflora edulis f. edulis* Sims.), markisa kuning (*Passiflora edulis vae Flavicarpa*) dan markisa erbis (*Passiflora quadrangularis*) (Karsinah dkk, 2007). Kandungan kimia daun, batang dan biji buah markisa umumnya mengandung senyawa berupa alkaloid, fenol, glikosida, flavonoid, sianogenik, passiflorisin, poliketida, dan α -piron. Dan senyawa yang berperan sebagai antioksidan dapat ditemukan dalam buah markisa adalah polifenol, karatenoid dan vitamin C (Rudnicki dkk, 2007). Dari penelitian yang dilakukan oleh Rudnicki (2007) terhadap ekstrak etanol daun markisa konyal dan markisa ungu dengan metode DPPH, didapatkan bahwa daun markisa juga memiliki aktivitas antioksidan. Namun, dengan berbedanya spesies nilai aktivitas antioksidannya juga berbeda. Berdasarkan penelitian Nuraziza (2019), didapatkan hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah markisa ungu dengan IC_{50} sebesar 80,36 μ g/mL (kategori kuat.)

Penelitian Salim dkk (2018) menunjukkan bahwa ekstrak air panas kulit dan biji markisa (*Passiflora ligularis* Juss) dan ekstrak etanol kulit dan biji markisa (*Passiflora ligularis* Juss) mengandung flavonoid, fenolik, dan triterpenoid. Penelitian Sari dkk (2021) menyatakan bahwa ekstrak etanol kulit buah markisa konyal (*Passiflora ligularis* Juss) memiliki aktivitas antioksidan yaitu dengan

nilai IC₅₀ sebesar 53,34 µg/mL (kategori kuat) yang diuji dengan metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil). Berdasarkan penelitian Ayu (2022) didapatkan bahwa ekstrak etanol biji buah markisa konyal memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ sebesar 21,8983 µg/mL (kategori sangat kuat) menggunakan metode DPPH. Dan berdasarkan penelitian Savira (2002) dinyatakan bahwa hasil penetapan kadar fenolat ekstrak daun buah markisa konyal memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ sebesar 74,48 µg/mL (kategori kuat) dengan metode DPPH.

Berdasarkan penjelasan di atas, maka dilakukan penelitian tentang penentuan nilai SPF (*Sun Protection Factor*) dari ekstrak etanol daun dan biji buah markisa konyal (*Passiflora ligularis* Juss) menggunakan metode spektrofotometer UV-Vis". Penentuan nilai SPF (*Sun Protection Factor*) dilakukan dengan metode Mansur.

1.2 Rumusan Masalah

Berapakah nilai SPF dari ekstrak daun dan biji buah markisa konyal (*Passiflora ligularis* Juss) menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis.

1.3 Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui nilai SPF dari ekstrak daun dan biji buah markisa konyal (*Passiflora ligularis* Juss) menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Penelitian ini bermanfaat dalam pengembangan ilmu pengetahuan terutama di bidang farmasi.
2. Untuk mengetahui dan memberikan informasi mengenai nilai SPF (*Sun Protection Factor*) dari ekstrak etanol daun markisa konyal (*Passiflora ligularis* Juss).
3. Untuk mengetahui dan memberikan informasi mengenai nilai SPF (*Sun Protection Factor*) dari ekstrak etanol biji buah markisa konyal (*Passiflora ligularis* Juss).

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Buah Markisa Konyal (*Passiflora ligularis* Juss)

2.1.1 Klasifikasi Tumbuhan Markisa Konyal (*Passiflora ligularis* Juss)

Tumbuhan markisa konyal berupa semak menjalar dengan panjang kurang lebih 10 m. Secara botani, tumbuhan konyal dapat diklasifikasikan antara lain (Hermani, 2005) :

Kingdom : Plantae
Divisio : Spermatophyte
Sub divisi : Angiospermae
Kelas : Dicotyledoneae
Ordo : Paretales
Famili : Passifloraceae
Genus : *Passiflora*
Spesies : *Passiflora ligularis* Juss



**Gambar 1. Buah Markisa Konyal
(Sumber : cybex.pertanian.go.id, 2021)**

2.1.2 Nama Daerah

Markisa memiliki nama-nama seperti buah Negri (Jawa), Paksi (Sunda), Konyal (Jawa Barat), Areuy Pasi, Monkey fruit, Maracuya (Spanyol), Granadilla (Amerika Selatan), Markisa (Melayu). (Mahkota, 2013).

2.1.3 Morfologi Tumbuhan

Markisa merupakan herba berkayu, memanjat, memiliki batang segi empat, berakar tunggal, dan nada sulur yang keluar dari ketiak daun. Daun tunggal terbesar, bangun daun bulat telur memanjang, pertulangan daun menjari, serta ada daun penumpu yang berukuran kecil. Pangkal daun berbentuk jantung bertaju tiga, permukaan daun licin, tepi daun bergigi tidak dalam dan runcing. Bunga keluar dari ketiak daun, hermaprodit, mahkota bunga berlepasan, dan ada mahkota tambahan. Bakal buah menumpang, buah buni, biji berarellus berwarna kuning, kulit buah yang masih muda berwarna hijau, hijau keunguan, setelah masak berwarna kuning tua. Panjang buah 9 cm, tebal kulit buah 1 cm, dan ada tiga daun buah membentuk satu ruang. Dialypetalae artinya mahkota bunga berlepasan, tanaman markisa family Passifloraceae artinya markisa-markisaan (Mahkota, 2013). Markisa konyal memiliki ukuran buah lebih besar dibandingkan markisa ungu. Bentuk dari karakteristik morfologi daun dan bunga juga sangat berbeda (Siregar, et al., 2018).

2.1.4 Kandungan Kimia Tanaman Markisa Konyal

Tanaman markisa umumnya memiliki fitokonstituen berupa senyawa alkaloid, fenol, flavonoid, sianogenik, passiflorisin, poliketida, glikosida, dan α -piron (Mahkota, 2013). Markisa mengandung karotenoid 1,16% pada varietas ungu, 0,06% pada varietas kuning; flavonoid 1.06% pada ungu, 1% pada kuning;

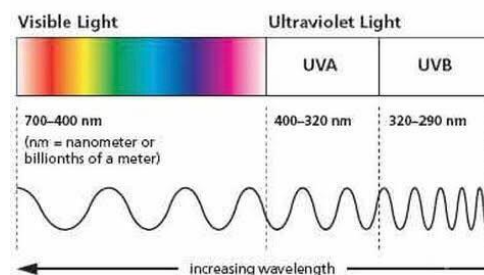
alkaloid (terutama harman yang dapat mengurangi cemas) 0.01% pada ungu, 0.70% pada kuning. Di dalam sari buah markisa terdeteksi 7 alkaloid, empat diantaranya telah teridentifikasi yaitu harman, harmol, harmin dan harmalin.

2.1.5 Manfaat Tanaman Markisa Konyal

Buah markisa memiliki banyak manfaat bagi kesehatan karena nilai gizinya yang tinggi (Ovelando, et al., 2013). Buah markisa konyal atau biasa disebut sweet maracuja memiliki rasa yang manis menyegarkan dan sangat cocok dikonsumsi sebagai buah segar (Karsinah, et al., 2013). Buah markisa konyal dapat mengurangi ketenangan otot, mengurangi kecemasan, kejang otot, sakit kepala dan menurunkan tekanan darah. daunnya untuk insomnia. Selain itu, buah markisa juga memiliki sifat antibakteri dan dapat digunakan untuk mengobati penyakit malaria (Mahkota, 2013).

2.2 Tinjauan SPF (*Sun Protection Factor*)

Sediaan tabir surya adalah sediaan kosmetika yang digunakan untuk maksud menyerap secara efektif sinar matahari terutama di daerah gelombang ultraviolet sehingga dapat mencegah terjadinya gangguan kulit oleh sinar matahari. Tabir surya dapat dibuat dalam berbagai bentuk sediaan seperti : krim, losio dan salep (Depkes RI. 1985).



Gambar 2. Panjang Gelombang Sinar Ultraviolet

Sinar ultraviolet (UV) adalah sinar yang dipancarkan oleh matahari yang dapat mencapai permukaan bumi selain cahaya tampak dan sinar inframerah. Sinar UV berada pada kisaran panjang gelombang 200-400 nm. Spektrum UV terbagi menjadi tiga kelompok berdasarkan panjang gelombang UV C (200-290), UV B (290-320) dan UV A (320-400). UV A terbagi lagi menjadi dua subbagian yaitu UV A2 (320-340) dan UV A1 (340- 400). Tidak semua radiasi sinar UV dari matahari dapat mencapai permukaan bumi (Colipa. 2006).

Energi dari radiasi sinar ultraviolet yang mencapai permukaan bumi dapat memberikan tanda dan simptom terbakarnya kulit. Diantaranya adalah kemerahan pada kulit (eritema), rasa sakit, kulit melepuh dan terjadinya pengelupasan kulit. UV B yang memiliki panjang gelombang 290- 320 nm lebih efektif dalam menyebabkan kerusakan kulit dibandingkan dengan UV A yang memiliki panjang gelombang yang lebih panjang 320-400 nm (McKinlay et,al. 1987).

Spektrum ultraviolet yang sampai ke bumi yaitu UV-A dengan panjang gelombang 320- 400 nm menyebabkan pigmentasi dan UV-B dengan panjang gelombang 290-320 nm menyebabkan eritema. Sedangkan UV-C dengan panjang gelombang yang lebih kecil dari 290 nm tidak sampai ke bumi karena tersaring oleh ozon (Wilkinson, et al. 1982).

Sediaan tabir surya didasarkan pada penentuan harga SPF (*Sun Protection Factor*) yang menggambarkan kemampuan produk tabir surya dalam melindungi kulit dari eritema (Stanfield. 2003). Harga SPF dapat ditentukan secara in vitro dan secara in vivo. Pengujian aktivitas serapan sinar UV secara in vitro dapat dilakukan dengan teknik spektroskopi UV yang diukur pada rentang panjang gelombang sinar UV (200- 400 nm). Nilai SPF merupakan perbandingan Minimal

Erythema Dose (MED) pada kulit manusia yang terlindungi tabir surya dengan MED tanpa perlindungan tabir surya.

Food and Drug Administration (FDA) membagi produk tabir surya berdasarkan nilai SPF-nya menjadi :

Tipe Proteksi	Nilai SPF
Proteksi minimal	2-4
Proteksi sedang	4-6
Proteksi ekstra	6-8
Proteksi maksimal	8-15
Proteksi ultra	>15

Table 1. Penilaian SPF Menurut Food and Drug Administration.

Mekanisme sediaan tabir surya dibedakan atas dua kelompok, yaitu kelompok tabir surya kimia yang bekerja menyerap sinar UV, dan kelompok pemblok fisik (tabir surya yang bekerja secara fisik). Tabir surya pemblok fisik bekerja dengan cara memantulkan atau membelokkan radiasi UV. Tabir surya fisik pada umumnya merupakan senyawa anorganik yang terbukti dapat memberikan manfaat mencegah terjadinya kerusakan kulit akibat radiasi sinar matahari. Akan tetapi, formulasi senyawa anorganik ini pada umumnya bersifat opaque, karena ukuran partikel serbuk akan mempengaruhi penampilan kulit pada saat dipakai. Bentuk nanopartikel pemblok fisik yang telah ada seperti TiO₂ dan ZnO memberikan hasil formulasi tabir surya yang transparan, sehingga dapat diterima dengan lebih baik sebagai kosmetik. Ukuran partikel bahan pemblok fisik yang sangat halus memungkinkan sediaan ini dapat berperan juga sebagai tabir

surya dengan mekanisme mengabsorpsi sinar UV. Akan tetapi, sediaan tabir surya dengan bahan aktif TiO_2 dan ZnO dalam bentuk nanopartikel pada umumnya memiliki harga jual yang tinggi, sehingga tidak terjangkau oleh masyarakat tingkat ekonomi bawah.

Senyawa dalam tabir surya mampu melindungi kulit karena adanya ikatan yang dapat saling berkonjugasi sehingga ikatan tersebut akan beresonansi saat terpapar sinar UV sehingga akan menurunkan energi dan bersifat melindungi kulit. Contoh senyawa yang biasa digunakan dalam tabir surya antara lain: turunan salisilat, turunan sinamat, phenylbenzimidazole sulfonic acid (PBSA). Senyawa dari turunan alkil sinamat dalam tabir surya memiliki kemampuan dalam menyerap sinar UV dikarenakan adanya ikatan konjugasi pada gugus fungsi benzena dan gugus fungsi karbonil. Mekanisme proteksi tabir surya terhadap kulit dijelaskan sebagai berikut:

- a. Molekul bahan kimia tabir surya yang menyerap energi dari sinar UV.
- b. Kemudian mengalami eksitasi dari ground state ke tingkat energi yang lebih tinggi.
- c. Sewaktu molekul yang tereksitasi kembali ke kedudukan yang lebih rendah akan melepaskan energi yang lebih rendah dari energi semula yang diserap untuk menyebabkan eksitasi.
- d. Maka sinar UV dari energi yang lebih tinggi setelah diserap energinya oleh bahan kimia maka akan mempunyai energi yang lebih rendah.
- e. Sinar UV dengan energi yang lebih rendah akan kurang atau tidak menyebabkan efek sunburn pada kulit (Lavi. 2013).

Banyak tabir surya yang saat ini mengandung bahan-bahan yang bekerja melalui kedua mekanisme baik dalam perlindungan UV, yang paling penting untuk menentukan efektivitas tabir surya adalah SPF (*Sun Protection Factor*) Pengukuran SPF menunjukkan kemampuan tabir surya untuk mencegah terjadinya eritema pada paparan radiasi UV.

1. Syarat dan bentuk sediaan tabir surya

Syarat-syarat bagi preparat kosmetik tabir surya:

- a. Enak dan mudah dipakai
- b. Jumlah yang menempel mencukupi kebutuhan
- c. Bahan aktif dan bahan dasar mudah tercampur
- d. Bahan dasar harus dapat mempertahankan kelembutan dan kelembaban kulit

2. Syarat-syarat bagi bahan aktif untuk preparat tabir surya:

- a. Efektif menyerap radiasi UV-B tanpa perubahan kimiawi, karena jika tidak demikian akan mengurangi efisiensi, bahkan menjadi toksik atau menimbulkan iritasi.
- b. Stabil yaitu tahan keringan dan tidak menguap
- c. Mempunyai daya larut yang cukup untuk mempermudah formulasinya
- d. Tidak berbau atau boleh berbau ringan
- e. Tidak toksik, tidak mengiritasi, dan tidak menyebabkan sensitasi.

3. Bentuk-bentuk preparat Sunscreen dapat berupa:

- a. Preparat anhydrous
- b. Emulsi (*non-greasy O/W, semi greasy dual emulsion, dan Fatty W/O*)

- c. Preparat tanpa lemak, dibandingkan tabir surya yang terbuat dari lemak, preparat tanpa minyak ini memiliki keuntungan, yaitu tidak berlemak dan tidak lengket, sehingga lebih menyenangkan untuk dipakai. Bahan-bahan pengental seperti sorbitol, gliserol, sering ditambahkan pada produk yang kadar alkoholnya tidak begitu tinggi untuk menambah ketebalan lapisan yang menempel pada kulit.

Penggolongan tabir surya didasarkan pada persen transmisi sinar UV (Balsam, 1972). SPF (*Sun Protection Factor*) merupakan indikator universal yang menjelaskan tentang keefektifan dari suatu produk atau zat yang bersifat UV protektor, semakin tinggi nilai SPF dari suatu produk atau zat aktif tabir surya maka semakin efektif melindungi kulit dari pengaruh buruk sinar UV (Dutra et al., 2004).

SPF (*Sun Protection Factor*) diartikan sebagai jumlah energi UV yang dibutuhkan untuk menimbulkan MED (*Minimal Erytemal Dose*) pada kulit yang terlindungi produk atau zat aktif tabir surya dibandingkan dengan jumlah energi yang dibutuhkan untuk menimbulkan MED tanpa perlindungan produk atau zat aktif tabir surya. Produk atau zat aktif tabir surya berdasarkan nilai SPF-nya yaitu nilai 2 sampai 12 merupakan perlindungan minimal, nilai 12 sampai 30 sebagai perlindungan sedang dan nilai 30 sebagai perlindungan ultra.

Efektifitas dari suatu sediaan tabir surya dapat ditunjukkan salah satunya adalah dengan nilai SPF (*Sun Protection Factor*), yang di definisikan sebagai jumlah energi UV yang dibutuhkan untuk mencapai minimal erythema dose (MED) pada kulit yang dilindungi oleh suatu tabir surya, dibagi dengan jumlah energi UV yang dibutuhkan untuk mencapai MED pada kulit yang tidak diberikan

perlindungan. MED didefinisikan sebagai jangka waktu terendah atau dosis radiasi sinar UV yang dibutuhkan untuk menyebabkan terjadinya erythema. (Wood & Murphy. 2000).

Pengukuran nilai SPF suatu sediaan tabir surya dapat dilakukan secara in vitro. Metode pengukuran nilai SPF secara in vitro secara umum terbagi dalam dua tipe. Tipe pertama adalah dengan cara mengukur serapan atau transmisi radiasi UV melalui lapisan produk tabir surya pada plat kuarsa atau biomembran. Tipe yang kedua adalah dengan menentukan karakteristik serapan tabir surya menggunakan analisis secara spektrofotometri larutan hasil pengenceran dari tabir surya yang diuji (Gordon. 1993).

Nilai SPF didefinisikan sebagai perbandingan energi UV yang dibutuhkan untuk menghasilkan eritema minimal pada kulit yang dilindungi dengan eritema yang sama pada kulit yang tidak dilindungi dalam individu yang sama. Untuk contoh, seorang individu menggunakan tabir surya SPF 4 akan mengambil empat kali lama untuk mengalami eritema ketika terpapar radiasi UVB dibandingkan dengan ketika individu tidak memiliki perlindungan.

FDA mengharuskan semua tabir surya mengandung SPF (*Sun Protection Factor*). Kisaran SPF dimulai dari 2 sampai lebih dari 50, Tabir surya dianjurkan dengan paling sedikit SPF 15. Peringkat SPF tabir surya dihitung dengan membandingkan jumlah waktu yang diperlukan untuk menghasilkan kulit terbakar sinar matahari pada kulit dilindungi tabir surya dengan jumlah waktu yang diperlukan untuk menyebabkan kulit terbakar pada kulit yang tidak terlindungi (Lavi. 2013).

Tabir surya dengan SPF menyatakan lamanya kulit seseorang berada dibawah sinar matahari tanpa mengalami sunburn. Sedang angka SPF menyatakan berapa kali daya tahan alami kulit dilipatgandakan sehingga aman dibawah sinar matahari tanpa mengalami sunburn (Shovyana dkk. 2013).

Energi UV yang dibutuhkan untuk menghasilkan minimum erythema dose (MED)
pada kulit dilindungi

—————→
Energi UV yang dibutuhkan untuk menghasilkan satu MED pada kulit yang tidak
dilindungi

Atau sebagai perbandingan antara pajanan UV yang dibutuhkan untuk menghasilkan eritema minimal pada kulit yang dilindungi, dan pajanan yang dapat menghasilkan eritema yang sama pada kulit yang tidak dilindungi.

2.3 Metode Ekstraksi

Ekstraksi dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu cara panas dan cara dingin. Ekstraksi cara panas yaitu dengan metode destilasi uap air dan refluks, sedangkan ekstraksi cara dingin yaitu dengan metode maserasi, perkolasi dan soxhletasi.

a. Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyarian maserat pertama dan seterusnya.

b. Perkolasi

Perkolasi adalah proses pengekstrakan dengan menggunakan pelarut yang selalu baru sampai terjadi penyarian sempurna yang umumnya dilakukan pada temperatur kamar. Terus-menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat).

c. Soxhletasi

Soxhletasi adalah proses penyarian simplisia secara berkesinambungan, dimana simplisia dimasukkan dalam klonsong yang telah dilapisi kertas saring, dan sampel dibasahi cairan penyari yang dipanaskan dan menguap ke kondensor melalui pipa samping kemudian turun untuk menyari simplisia dan masuk ke labu alas bulat melalui pipa sifon, proses ini berlangsung hingga penyarian sempurna yaitu 20-25 siklus.

d. Refluks

Refluks adalah metode penyarian dengan cara cairan penyari dipanaskan hingga mendidih, penyari akan menguap ke atas melalui serbuk simplisia, uap penyari pengembun karena didinginkan oleh pendingin balik (kondensor). Embun turun melalui serbuk simplisia sambil melarutkan zat aktifnya dan kembali ke labu. Cairan akan menguap berulang hingga pelarut jenuh.

e. Destilasi uap air

Penarikan komponen kimia dimana bahan atau simplisia dicampur dengan air dan dipanaskan hingga mendidih. Uap yang timbul dibiarkan mengembun hingga minyak terpisah dari air. Metode ini dilakukan untuk menyari simplisia yang mengandung minyak menguap atau kandungan komponen kimia yang mempunyai titik didih tinggi pada tekanan udara normal. Minyak menguap yang telah terekstraksi menuju kondensor dan akan terkondensasi, lalu akan melewati pipa

alanga, campuran air dan minyak menguap akan masuk ke dalam corong pisah, dan akan memisah antara air dan minyak atsiri.

Isolasi flavonoid umumnya dilakukan dengan metode ekstraksi, yaitu maserasi atau sokhletasi menggunakan pelarut etanol atau metanol. Aglikon flavonoid adalah polifenol dan karena itu mempunyai sifat fisika kimia senyawa fenol, yaitu bersifat agak asam sehingga dapat larut dalam basa. Karena mempunyai sejumlah gugus hidroksil, flavanoid merupakan senyawa polar.

Flavanoid umumnya larut dalam pelarut seperti Etanol (EtOH), Metanol (MeOH), Butanol (BuOH), Aseton, Dimetil Sulfosida (DMSO), Dimetilformamida (DMF), air, dan lain-lain. Sebaliknya, aglikon yang kurang.

2.4 Tinjauan Spektrofotometer

Spektrofotometri UV-Vis Spektrofotometer adalah alat yang terdiri dari spektrometer dan fotometer. Spektrometer menghasilkan sinar dari spektrum dengan panjang gelombang tertentu dan fotometer adalah alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan, direfleksikan atau diemisikan sebagai fungsi dari panjang gelombang. (Khopkar, 2007).

Suatu spektrofotometer UV-Vis dapat mengukur dan merekam spektrum senyawa tumbuhan dalam bentuk larutan. Spektrum tampak terentang panjang dari 400 nm (ungu) sampai 750 nm (merah), sedangkan spektrum ultraviolet terentang dari 100 nm sampai 400 nm (Fessenden, 1994).

Suatu spektrofotometer tersusun dari sumber spektrum tampak yang kontinu, monokromator, sel pengabsorpsi untuk larutan sampel atau blanko dan suatu alat untuk mengukur perbedaan absorpsi antara sampel dan blanko ataupun pembanding (Khopkar, 2007).

1. Sumber Cahaya

Sumber yang biasa digunakan pada spektroskopi absorpsi adalah lampu wolfram. Arus cahaya tergantung pada tegangan lampu. Lampu hidrogen atau lampu deuterium digunakan untuk sumber pada daerah UV.

Lampu tungstein merupakan campuran dari filamen tungstein gas iodin (halogen), oleh sebab itu lampu tungstein-iodin pada spektrofotometer sebagai sumber radiasi pada daerah sinar tampak dengan rentang panjang gelombang 380-900 nm.

Lampu merkuri adalah suatu lampu yang mengandung uap merkuri tekanan rendah dan biasanya dipakai untuk mengecek, mengkalibrasi panjang gelombang pada spektrofotometer pada daerah ultraviolet khususnya daerah disekitar panjang gelombang 365 nm dan sekaligus mengecek resolusi monokromator.

2. Monokromator

Monokromator berfungsi untuk mendapatkan radiasi monokromatis dari sumber radiasi yang memancarkan radiasi polikromatis. Monokromator pada spektrofotometer biasanya terdiri dari susunan meliputi celah (slit), filter, prisma, kisi dan celah keluar.

1. Celah (slit)

Celah monokromator adalah bagian yang pertama dan terakhir dari suatu sistem optik monokromator pada spektrofotometer. Celah monokromator berperan penting dalam hal terbentuknya radiasi monokromatis dan resolusi panjang gelombang.

2. Filter optic

Cahaya tampak yang merupakan radiasi elektromagnetik dengan panjang gelombang 380-780 nm merupakan cahaya putih yang berupa campuran cahaya dengan berbagai panjang gelombang.

Filter optik berfungsi untuk menyerap warna komplementer sehingga cahaya tampak yang diteruskan sesuai dengan warna filter optik yang dipakai. Filter optik yang sederhana dan banyak dipakai terdiri dari kaca yang berwarna. Dengan adanya filter optik sebagai bagian monokromator akan dihasilkan pita cahaya yang sangat sempit sehingga kepekaan analisisnya lebih tinggi. Dan lebih dari itu akan didapatkan cahaya hampir monokromatis sehingga akan mengikuti hukum Lambert-Beer pada analisis kuantitatif.

3. Prisma dan Kisi (grating)

Prisma dan Kisi merupakan bagian monokromator yang terpenting. Prisma dan kisi pada prinsipnya mendispersi radiasi elektromagnetik sebesar mungkin supaya didapatkan resolusi yang baik dari radiasi polikromatis.

4. Sel Absorpsi

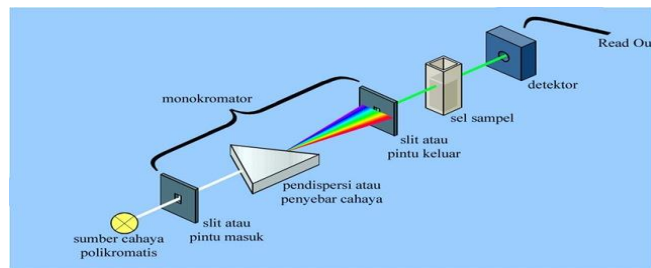
Pada pengukuran di daerah tampak, kuvet kaca dapat digunakan, tetapi untuk pengukuran pada daerah UV menggunakan sel kuarsa karena gelas tidak tembus cahaya pada daerah ini. Umumnya tebal kuvet adalah 10 mm, tetapi yang lebih kecil maupun yang lebih besar tetap dapat digunakan. Sel yang biasa digunakan berbentuk persegi, bentuk silinder juga dapat digunakan. Kuvet yang digunakan harus tertutup untuk pelarut organik. Sel yang baik adalah kuarsa atau gelas hasil leburan serta seragam keseluruhannya.

5. Detektor

Peranan detektor penerima adalah memberikan respon terhadap cahaya pada berbagai panjang gelombang.

6. Amplifier

Amplifier dibutuhkan pada saat sinyal listrik elektronik yang dilahirkan setelah melewati detektor untuk menguatkan karena penguat dengan resistensi masukan yang tinggi sehingga rangkaian detektor tidak terserap habis yang menyebabkan keluaran yang cukup besar untuk dapat dideteksi oleh suatu alat pengukur.



Gambar 3. Seperangkat Alat Spektrofotometer UV-Vis

(Watson, 1999)

Hukum Lambert-Beer menyatakan bahwa intensitas yang diteruskan oleh larutan zat penyerap berbanding lurus dengan tebal konsentrasi larutan dan berbanding terbalik dengan transmittan.

Hukum tersebut dituliskan dengan :

$$A = abc = \log 1/T$$

Keterangan: A : absorban

a : koefisien eksitasi

b : tebal sel (cm)

c : konsentrasi analit

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Januari-Juni 2023 di Laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Perintis Indonesia.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah spektrofotometer UV-Vis, pipet tetes, erlenmeyer, seperangkat alat Rotary Evaporator, timbangan analitik (Mettler Toledo), serangkaian peralatan sokletasi, pinset, gelas ukur, krus porselen, labu ukur, cawan penguap, botol semprot, batang pengaduk, kaca objek, corong, vial, aluminium foil, botol meserasi, spatel, sudip, kertas saring, penggaris, slinder logam, beaker glass, corong pisah.

3.2.2 Bahan

Bahan bahan yang digunakan adalah daun dan biji buah markisa konyal (*Passiflora ligularis* Juss), etanol p.a, etanol 96%, etanol 70%, kloroform, amoniak, aquades, logam Mg, HCl (p), H_2SO_4 (p), $FeCl_3$, Norit, Asam asetat anhidrat, natrium karbonat, Follin Ciocalteu, pereaksi mayer.

3.3 Prosedur penelitian

3.3.1 Pengambilan Sampel

Sampel tanaman yaitu daun 3 kg dan buah 10 kg tumbuhan markisa konyal yang diambil di daerah Alahan Panjang, Kecamatan Lembah Gumanti Solok, Provinsi Sumatera Barat.

3.3.2 Identifikasi Sampel

Identifikasi sampel dilakukan di Herbarium Andalas (ANDA) jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas (UNAND) Padang.

3.3.3 Penyiapan Sampel

Simplisia dibuat dari daun 3 kg dan biji buah 10 kg markisa konyal segar kemudian masing-masing dibersihkan dari kotoran yang menempel dengan air mengalir dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan tanpa sinar matahari selama 2 minggu atau sampai kering. Selanjutnya daun dan biji buah yang sudah kering diblender sampai menjadi serbuk simplisia dan ditimbang masing-masing berat simplisia yang didapatkan (Badan POM RI, 2004).

3.3.4 Ekstraksi Etanol Daun dan Biji Tumbuhan Markisa Konyal

Ekstrak daun dan biji tumbuhan markisa konyal dibuat dengan cara maserasi. Masing-masing serbuk simplisia daun dan biji buah markisa konyal ditimbang sebanyak 250 g dan dimasukkan ke dalam botol maserasi yang berbeda kemudian direndam dalam pelarut etanol 70% selama 3 hari sambil diaduk sesekali. Selanjutnya dilakukan penyaringan untuk mendapat maserat dan ampasnya direndam kembali dengan pelarut etanol 96%, maserasi dilakukan sampai filtrat terlihat bening atau tidak berwarna lagi. Masing-masing daun dan biji markisa konyal yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan rotary evaporator sampai diperoleh ekstrak kental (RI, 2012).

3.3.5 Evaluasi Ekstrak Etanol Tumbuhan Markisa konyal

1. Organoleptis

Pengamatan secara visual dengan pengamatan meliputi bau, bentuk dan warna, (Depkes 2000).

2. Rendemen

Rendemen dihitung dengan cara membandingkan berat ekstrak etanol yang didapat dengan berat awal sampel (Depkes RI, 2000).

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak (g)}}{\text{Berat sampel awal (g)}} \times 100\%$$

Gambar 4. % Rendemen

3.3.6 Uji Skrining Fitokimia

Uji skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada daun dan biji tumbuhan markisa konyal. Metabolit sekunder yang diuji yaitu senyawa alkaloid, steroid, triterpenoid, saponin, flavonoid dan fenolik.

1. Uji Alkaloid

Diambil lapisan kloroform 1-2 tetes ditambahkan 1 mL kloroform amoniak 0,05 N, diaduk perlahan, ditambahkan beberapa tetes H₂SO₄ 2N, dikocok perlahan, dibiarkan memisah. Lapisan asam ditambahkan beberapa tetes pereaksi Mayer, reaksi positif alkaloid ditandai adanya endapan putih hingga gumpalan putih.

2. Uji Terpenoid dan Steroid

Ambil 1-2 tetes lapisan kloroform dan kemudian saring melalui pipet yang didalamnya sudah terdapat norit dank pas sehingga dapat diperoleh fitrat yang jernih dan tidak berwarna. Teteskan fitrat pada tiap lubang plat tetes, biarkan sampai kering. Kemudian pada lobang pertama masukan asam dan setetes asam sulfat pekat. Warna merah menunjukkan adanya senyawa terpenoid dan warna hijau menunjukkan adanya senyawa steroid (Harbone 1987).

3. Uji Saponin

Sebagian lapisan air dimasukan kedalam tabung reaksi dan kemudian dikocok dengan kuat, Terbentuknya busa permanen ($\pm$ 15 menit menandakan adanya saponin.

4. Uji Flavonoid

Ambil 1-2 tetes lapisan air kemudian teteskan pada plat tetes, lalu tambahkan logam Mg dan 1-2 tetes HCL pekat. Terbentuknya warna orange sampai dengan merah menandakan adanya senyawa flavonoid.

5. Uji Fenolik

Ambil 1-2 tetes lapisan air kemudian teteskan kedalam plat tetes, kemudian tambahkan 1-2 tetes pereaksi FeCl_3 . Terbentukan Warna biru atau hijau menandakan adanya senyawa fenolik.

3.3.7 Pemeriksaan Susut Pengeringan

Krus porselen dan tutupnya di keringkan didalam oven pada suhu 105°C selama lebih kurang 30 menit dan di dinginkan, kemudian ditimbang beratnya. Masukkan ekstrak sebanyak 1-2 gram ke dalam krus. Kemudian krus digoyangkan agar ekstrak merata dan krus masukkan kembali ke dalam oven, buka tutupnya dan biarkan tutup tetap di dalam oven. Krus yang telah berisi ekstrak tersebut dipanaskan didalam oven dengan suhu 105°C selama 1 jam. Krus kemudian dikeluarkan dan didinginkan dalam desikator, lalu ditimbang. Lakukan pengulangan seperti cara di atas hingga diperoleh berat yang konstan (Depkes RI, 2008).

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

Gambar 5. Susut Pengerinan

Keterangan: A = Berat krus kosong

B = Berat krus + sebelum sampel dipanaskan

C = Berat krus + setelah sampel dipanaskan

3.3.8 Pemeriksaan kadar abu

Sampel kental ditimbang sebanyak 2-3 gram dan dimasukan ke dalam krus porselen yang telah dipijarkan kemudian diratakan. Pijarkan perlahan hingga arang habis, dinginkan didalam desikator dan timbang beratnya. Kemudian arang tersebut dimasukan kedalam *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).

Rumus perhitungan kadar abu

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

Keterangan :

A = Berat krus kosong

B = Berat krus + sampel sebelum dipanaskan

C = Berat krus + sampel setelah dipanaskan

3.4 Penentuan Nilai SPF

3.4.1 Penentuan nilai SPF ekstrak etanol daun markisa konyal

Ekstrak etanol daun markisa konyal ditimbang sebanyak 25 mg. Kemudian dilarutkan kedalam labu ukur 25 mL ad kan etanol p.a sampai tanda batas untuk

mendapatkan larutan induk 1000 ppm. Dari larutan induk dipipet 2,5 ml, 5 ml dan 7,5 ml untuk diencerkan menjadi konsentrasi 250 ppm, 500 ppm dan 750 ppm. Spektrofotometer UV-Vis dikalibrasi terlebih dahulu menggunakan etanol p.a dan etanol p.a dimasukkan di dalam kuvet. Dibuat kurva serapan uji dalam kuvet dengan panjang gelombang antara 290-320 nm, etanol p.a digunakan sebagai blanko. Kemudian tetapkan serapan interval 5 nm. Hasil absorbansi masing-masing konsentrasi dicatat dan kemudian nilai SPF dihitung menggunakan metode Mansur (Yulianti, 2015).

3.4.2 Penentuan nilai SPF ekstrak etanol biji buah markisa konyal

Ekstrak etanol biji buah markisa konyal ditimbang sebanyak 25 mg. Kemudian dilarutkan kedalam labu ukur 25 mL ad kan etanol p.a sampai tanda batas untuk mendapatkan larutan induk 1000 ppm. Dari larutan induk dipipet 2, 3 dan 4 ml untuk diencerkan menjadi konsentrasi 200, 300 dan 400 ppm. Spektrofotometer UV-Vis dikalibrasi terlebih dahulu menggunakan etanol p.a dan etanol p.a dimasukkan di dalam kuvet. Dibuat kurva serapan uji dalam kuvet dengan panjang gelombang antara 290-320 nm, etanol p.a digunakan sebagai blanko. Kemudian tetapkan serapan interval 5 nm. Hasil absorbansi masing-masing konsentrasi dicatat dan kemudian nilai SPF dihitung menggunakan metode Mansur (Yulianti, 2015).

Analisis data nilai SPF menggunakan metode Mansur (1986) yaitu :

Rumus :

$$SPF_{spectrophotometric} = CF \times \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \times I(\lambda) \times Abs(\lambda)$$

Gambar 6. Rumus Perhitungan SPF metode mansur

Keterangan :

- CF : *Correction factor* (factor koreksi)
- EE : Erythemal effect sprectum
- I : Intensitas sprektum matahari pada panjang gelombang
- Abs : Absorbansi produk tabir surya

Nilai $EE \times I$ adalah suatau ketetapan atau konstan. Ditentukan oleh sayre *et all*, 1979 pada table berikut:

Panjang Gelombang	EE (λ) x I (λ)
290	0,015
295	0,0817
300	0,2874
305	0,3278
310	0,1864
315	0,0837
320	0,0180
Jumlah	1

(Utami dkk., 2021)

Table 2. Nilai Spektrum Efek Eritema (EE) Kali Intensitas Iinar UV

Cara perhitungan :

1. Nilai serapan yang diperoleh dikalikan dengan nilai $EE \times I$ untuk masing–masing panjang gelombang yang terdapat pada tabel diatas.
2. Hasil perkalian serapan dan $EE \times I$ dijumlahkan.

3. Hasil penjumlahan kemudian dikalikan dengan faktor koreksi yang nilainya 10 untuk mendapatkan nilai SPF sediaan.

Sebagaimana tampak pada rumus Mansur, rumus Mansur memerlukan nilai spektrum efek eritema (EE) yang dikalikan dengan intensitas sinar UV (I). Nilai ini dapat dilihat pada Tabel 2.