

**PENENTUAN NILAI *SUN PROTECTION FACTOR* (SPF)
EKSTRAK DAUN, BUNGA, BUAH DAN
AKAR SENDUDUK (*Melastoma malabathricum* L)**

DRAFT PROPOSAL



Oleh :

SISKA VERDALINA
NIM : 1904081

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

2023

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Matahari adalah sumber kehidupan yang terdiri dari beberapa macam sinar UV. Spektrum elektromagnetik daerah ultraviolet (UV), terbagi menjadi 3 bagian antara lain UV-A (320-400nm), UV-B (290-320nm), dan UV-C (200-290nm). Radiasi UV-C disaring oleh atmosfer sebelum sampai ke bumi. Radiasi UV-B tidak sepenuhnya disaring oleh lapisan ozon yang dapat menyebabkan kulit terbakar matahari (*sunburn*), sedangkan radiasi UV-A mampu mencapai lapisan epidermis dan dermis lebih dalam, dan dapat mengakibatkan penuaan dini pada kulit. 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. Salah satu cara mengurangi dampak buruk dari paparan sinar matahari yaitu dengan menggunakan tabir surya (Widyawati, dkk 2019).

Secara alami, kulit berusaha melindungi dirinya beserta organ dibawahnya dari bahaya sinar UV, dengan membentuk butir-butir pigmen melanin yang akan memantulkan sinar matahari. Namun apabila terjadi pembentukan melanin secara berlebihan, maka akan terbentuk noda hitam dikulit oleh karena itu diperlukan tabir surya untuk melindungi kulit. Tabir surya memiliki cara kerja berbeda dalam melindungi kulit yaitu tabir surya dapat memantulkan sinar UV agar tidak terkena kulit dan dapat menyerap UV sebelum mengenai kulit. Tabir surya mempunyai nilai Sun protection factor (SPF) ≥ 4 yang mampu melindungi kulit dari paparan sinar UV.

Nilai SPF menunjukkan kemampuan tabir surya dalam memberikan perlindungan dibawah sinar matahari tanpa kulit mengalami eritema (Rai R, dkk 2007).

Tabir surya ada 2 yaitu tabir surya kimia misalnya benzofenon dan antranilat yang dapat mengabsorpsi energi radiasi sedangkan tabir surya fisik misalnya titanium dioksida dan seng oksida yang dapat memantulkan sinar. Ada pula tabir surya alami misalnya senyawa fenolik di dalam tumbuhan yang berfungsi melindungi jaringan tumbuhan terhadap kerusakan akibat radiasi matahari. Senyawa fenolik khususnya flavonoid mempunyai potensi sebagai tabir surya karena adanya gugus kromofor (ikatan rangkap tunggal terkonjugasi) yang mampu menyerap sinar UV baik UV-A maupun UV-B sehingga mengurangi intensitasnya pada kulit (shovyana, 2013). Penggunaan zat-zat yang bersifat antioksidan dapat mencegah berbagai penyakit yang ditimbulkan oleh radiasi sinar UV, beberapa golongan senyawa aktif seperti fenolik memiliki kemampuan sebagai perlindungan terhadap sinar UV (Hogade, 2010).

Salah satu tumbuhan di Indonesia yang dikenal sebagai Senduduk atau *Melastoma malabathricum* L, telah dilaporkan dari berbagai penelitian memiliki kandungan senyawa polifenol seperti kalferol, antosianin, flavonoid, tanin. Salah satu fenolik yang diisolasi adalah nobotanin B (Liana, 2010). Selain kandungan fenolik senduduk juga teridentifikasi mengandung saponin, steroid, triterpenoid dan glikokosida (Trease, G.E,1989).

Secara tradisional masyarakat meyakini bahwa daun, bunga, buah dan akar senduduk bisa digunakan sebagai obat-obatan herbal untuk menyembuhkan berbagai penyakit. Masyarakat melayu telah menggunakan dedaunan dan akarnya untuk menyembuh luka, perawatan setelah melahirkan dan pencegahan bekas luka dari

infeksi cacar, maag, disentri dan diare. Senduduk berkhasiat untuk mengatasi gangguan pencernaan makanan, disentri basiler, diare, hepatitis (Roslen, dkk 2014).

Berdasarkan latar belakang tersebut, peneliti telah melakukan penelitian penentuan nilai SPF dari ekstrak daun, bunga, buah, dan akar senduduk (*Melastoma malabathricum* L.) secara in- vitro. Metode penentuan nilai SPF ini menggunakan metode mansur dari ekstrak daun, bunga, buah dan akar senduduk.

1.2 Rumusan Masalah

Berapakah nilai SPF ekstrak daun, bunga, buah, dan akar senduduk (*Melastoma malabathricum* L.)?

1.3 Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui nilai SPF dari ekstrak daun, bunga, buah, dan akar senduduk (*Melastoma malabathricum* L.)

1.4 Manfaat Penelitian

1. Hasil penelitian ini dapat dimanfaatkan oleh penelitian lanjutan yang juga mengangkat tentang masalah uji SPF
2. Untuk mengetahui dan memberi informasi nilai SPF dari ekstrak daun, bunga, buah dan akar senduduk.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Biologi Tumbuhan Senduduk

2.1.1 Klasifikasi Tumbuhan Senduduk (*Melastoma malabathricum* L.)

Dalam taksonomi tumbuhan, senduduk akar diklasifikasikan sebagai mana dirujuk dalam Pramana (2013) sebagai berikut:



Gambar 1. Senduduk (*Melastoma malabathricum* L.)

(https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Melastoma_malabathricum_Malaysia.J)

Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Bangsa	: Myrtales
Suku	: Melastomataceae
Marga	: Melastoma
Jenis	: <i>Melastoma malabathricum</i> L.

2.1.2 Morfologi Tumbuhan Senduduk (*Melastoma malabathricum* L.)

Tumbuhan senduduk merupakan suku *melastomataceae* yang umumnya berupa semak, perdu atau pohon kecil. Batangnya berkayu berwarna coklat, tingginya sekitar 1,5-5 m dengan percabangan simpodial. Daunnya tunggal, biasanya dengan 3-9 tulang yang melengkung, bertangkai, letaknya berhadapan bersilang. Helai daun berwarna hijau, berbentuk bulat telur dengan panjang 2-20 cm dan lebar 1-8 cm, memiliki ujung dan pangkal daun runcing, bagian tepi daun rata, permukaannya berambut pendek, memiliki 3 tulang daun yang melengkung dengan panjang petiolus 5-12 mm (Tjitrosoepomo, 2007)

Bunga majemuk keluar diujung cabang warna ungu kemerahan. Buah masak akan merekah dan terbagi dalam beberapa bagian, warnannya ungu tua kemerahan, bijinya kecil berwarna coklat. Dan buah dapat dimakan, Sedangkan daun muda dapat dimakan sebagai lalapan atau sayur (Djauhariya, 2004)

2.1.3 Nama Daerah Tumbuhan Senduduk (*Melastoma malabathricum* L.)

Nama lain senduduk (*M. malabathricum* L.) adalah *melastoma affine* G. Don., *Melastoma polyanthum* BI. Di Indonesia senduduk dikenal dengan nama haredong (Sunda), senggani (Jawa), kemanden (Madura) dan senduduk (Sumatra) (Steenis, 2005)

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.

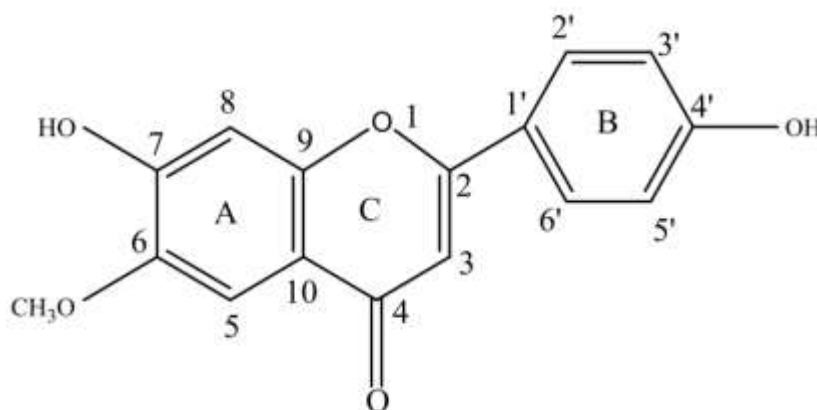
f. Fraksinasi

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 Kandungan Kimia

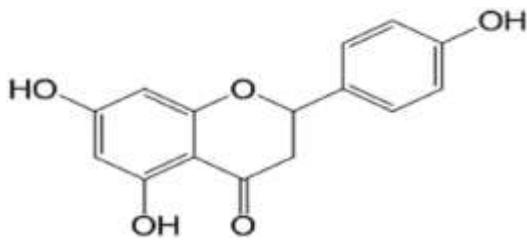
Kandungan kimia yang dimiliki daun Senduduk, antara lain: saponin, flavonoid dan tanin terhidrolisis yang biasa disebut dengan nobotanin B. mengandung

kaempferol, antosianin, tanin, asam lemak dan sterol (Liana, 2010). Berdasarkan analisis data dan interpretasi yang dilakukan pada spektrum UV-Visible, Spektrum Inframerah (FT-IR), Spektrum Resonansi Magnetik Inti Proton (^1H -NMR) bahwa senyawa hasil isolasi dari buah senduduk adalah senyawa flavonoida golongan flavon (Jamilah, 2020)



Gambar 2. Senyawa Flavonoida golongan Flavon (Jamilah, 2020)

Menurut Sentra informasi IPTEK (2009), buah senggani berwarna ungu kemerahan dan diduga mengandung antosianin. Buah senggani dapat dijadikan sebagai sumber pewarna alami. Antosianinnya dapat diekstrak dengan cara ekstraksi menggunakan pelarut yang bersifat polar karena sifat antosianin yang juga bersifat polar. Pada umumnya, dalam pengukuran antioksidan, pelarut etanol yang paling sering digunakan. Penelitian sirat *et al* menunjukkan bahwa ekstrak bunga senduduk menghasilkan kaempferol -3-O-(2'', 6''-di-O-p-trans-coumaroyl) dan ekstrak etil asetat menghasilkan senyawa narigenin. Ekstrak daun senduduk mengandung senyawa aktif di antaranya alkaloid (Rohmawati dan Harahap, 2019; Gholib, 2009)



Naringenin



R=H kaempferol

Gambar 3. senyawa hasil isolasi yang telah dilaporkan dari tumbuhan senduduk

2.5 Sinar Ultraviolet (UV)

Definisi Sinar Ultraviolet (UV) Sinar ultraviolet (UV) merupakan salah satu 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. Sumber utama radiasi UV adalah cahaya matahari yang terdiri dari beberapa panjang gelombang. Cahaya UV paling membahayakan untuk kulit (Mishra *et al.*, 2011).

Sinar Ultraviolet (UV) terbagi menjadi 3 macam frekuensi yaitu:

a. Ultraviolet A (UV-A)

UV-A memiliki panjang gelombang 320 – 400 nm dapat menyebabkan efek tanning (kulit berwarna gelap) yang disebabkan oleh produksi melanin yang berlebihan dalam epidermis (Mishra *et al.*, 2011). Paparan UV-A jangka panjang dapat menyebabkan kulit terbakar dan membahayakan struktur dermis. Hal ini dapat menyebabkan kerusakan protein selular, lipid, dan sakarida kemudian menyebabkan nekrosis dari sel endothel kemudian merusak pembuluh darah di dermal sehingga merubah struktur DNA dan menyebabkan kanker.

b. Ultraviolet B (UV-B)

UV-B memiliki Panjang gelombang 290 – 320 nm yang dapat menyebabkan kulit terbakar matahari. Lapisan ozon dapat menahan sekitar 90% UV-B, tetapi terjadinya penipisan lapisan ozon oleh chlorofluorocarbons (CFC) yang dapat menyebabkan UV-B menembus lapisan ozon menuju ke bumi (Mishra et al., 2011). Radiasi UV-B merupakan konstituen paling aktif dari cahaya matahari. UV-B 1000 kali lebih mampu menyebabkan kulit terbakar dibandingkan UV-A sehingga disebut burning ray. UV-B lebih genitoxic dibandingkan UV-A dan bertindak secara dominan di lapisan epidermis basal pada kulit. UV-B menginduksi secara langsung dan tidak langsung efek samping biologi yang termasuk pembentukan dari pyrimidine photoproducts, stimulasi sintesis DNA dan produksi radikal bebas.

c. Ultraviolet C (UV-C)

UV-C memiliki panjang gelombang 220 – 290 nm yang telah disaring oleh lapisan ozon pada atmosfer (Mishra et al., 2011). Radiasi UV-C merupakan radikal yang paling berbahaya. Paparan secara jangka pendek radiasi UV-C dapat mengakibatkan kerusakan yang parah pada kulit.

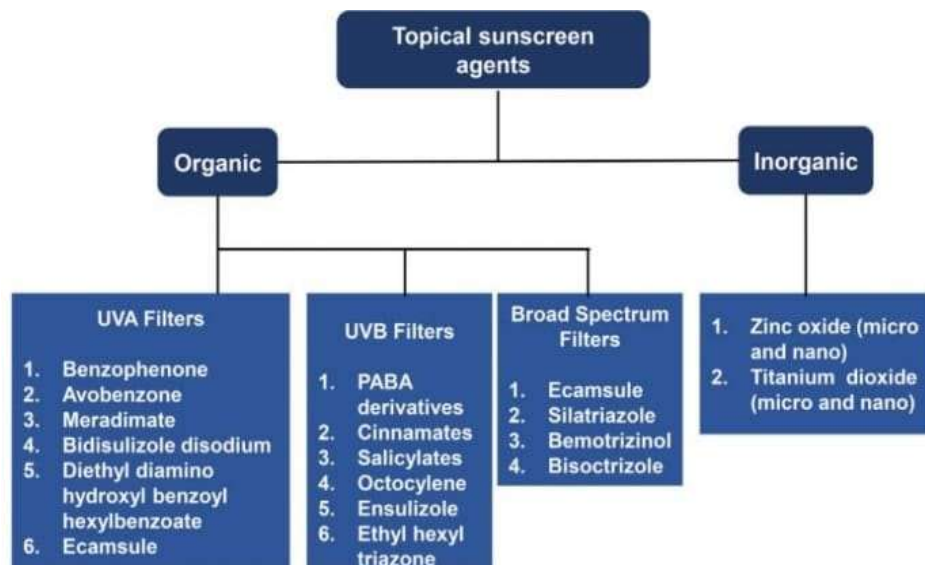
2.6 SPF

Efektivitas dari suatu sediaan tabir surya salah satunya adalah dengan *Sun Protection Factor* (SPF), yang didefinisikan sebagai jumlah energi UV yang dibutuhkan untuk mencapai *Minimal Erythema Dose* (MED) pada kulit yang dilindungi oleh tabir surya, dibagi dengan jumlah energi UV yang dibutuhkan untuk mencapai MED pada kulit yang tidak di berikan perlindungan (Dutra dkk, 2004)

Mansur (1986) mengembangkan suatu metode operasi yang cepat dan sederhana untuk menentukan nilai SPF secara in vitro dengan menggunakan spektrofotometri. Spektrum absorbansi ditentukan dalam kisaran panjang gelombang UV B yaitu 290 nm-320 nm dengan interval 5 nm dan menggunakan etanol sebagai blanko. Data absorbansi yang diperoleh dimasukkan dalam persamaan SPF dan menggunakan konstanta yang telah ditetapkan.

2.7 Tabir Surya

Tabir Surya Tabir surya atau UV filter adalah konstituen yang ada dalam formulasi topikal yang memiliki kemampuan untuk berinteraksi dengan UVR (Ultraviolet Radiation) melalui tiga dasar mekanisme yakni: refleksi, hamburan dan absorpsi. Agen tabir surya pada dasarnya diklasifikasikan 2 jenis yaitu tabir Surya organik dan anorganik yang memiliki mekanisme kerja spesifik setelah terpapar sinar matahari (Egambaram et al., 2020).



Gambar 4. Klasifikasi Agen Tabir Surya (Sumber: Egambaram et al., 2020)

1. Tabir Surya Bahan Kimia

a. Tabir Surya Organik

Tabir Surya organik sering disebut sebagai Tabir Surya kimia metode kerjanya adalah menyerap UVR (Ultraviolet Radiation) untuk mencegahnya mencapai kulit, yang melibatkan serangkaian perubahan kimiawi dalam molekul-molekul ini. Tabir surya ini biasanya senyawa aromatik yang mengandung gugus karbonil, seperti salisilat, sinamat dan benzofenon, tabir surya organik memiliki tiga perbedaan cara mereka bereaksi saat menghadapi UVR: melepaskan energi insiden sebagai panas, mengalami perubahan konformasi molekul dan memancarkan radiasi pada panjang gelombang yang lebih tinggi. Menggabungkan beberapa tabir Surya organik merupakan praktik umum untuk mencapai perlindungan UV spektrum luas (UV-A dan UV-B) dan Sun Protection Factor (SPF) untuk formulasi tabir surya.

b. Tabir Surya Anorganik

Tabir surya anorganik sering disebut juga tabir surya fisik karena tindakannya mengacu pada hamburan dan memantulkan cahaya, yaitu sebuah fenomena fisik. Contoh tabir surya anorganik seperti ZnO, TiO₂, kaolin dan ichthammol, dimana ZnO dan TiO₂ merupakan bahan yang paling umum digunakan. Tabir surya anorganik ini memiliki beberapa keuntungan dibandingkan Tabir Surya organik, seperti menyediakan perlindungan UV dari UV-A dan UV-B (broad-spectrum). Adanya peningkatan pada penggunaan Tabir Surya anorganik daripada Tabir Surya organik khusus pada produk untuk anak-anak dan orang dengan kulit sensitif karena memiliki kemungkinan lebih rendah

berpotensi menghasilkan reaksi iritan. Berbagai tabir surya anorganik seperti ZnO dan TiO₂ telah digunakan dalam tabir surya dalam beberapa dekade karena tabir surya anorganik memiliki agen aktif yang berspektrum luas. ZnO biasanya memberikan perlindungan di dalam rentang UV-A, sedangkan TiO₂ mencakup wilayah UV-B dan sebagian rentang UV-A (Manaia et al., 2013).

Tabel 1. kategori proteksi tabir surya :

(Sumber, Anugraha, 2009)

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

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

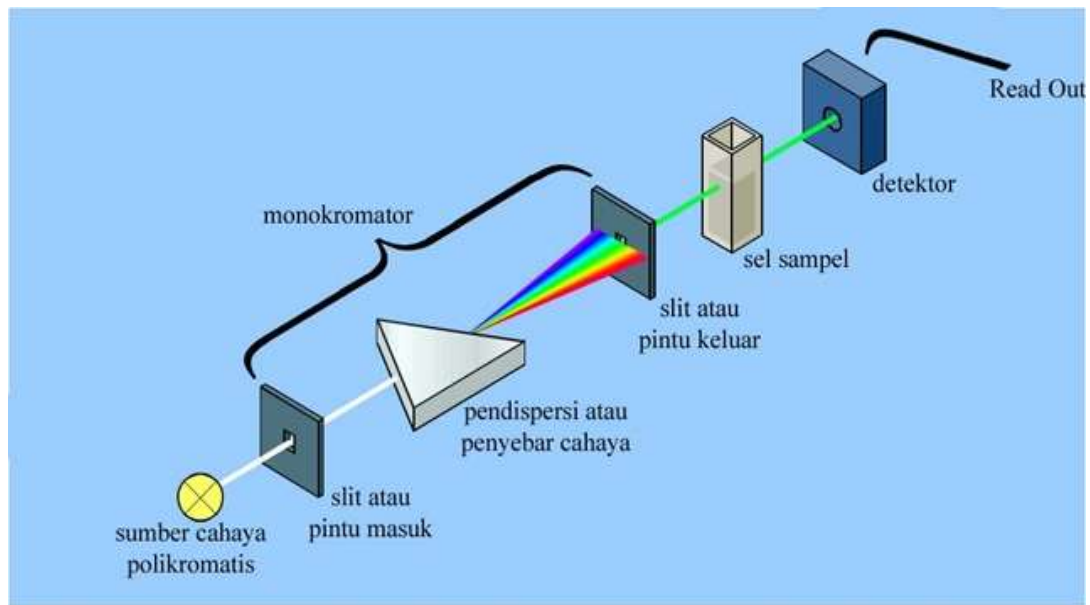
Berfungsi untuk menyerap warna komplementer sehingga cahaya yang diteruskan merupakan cahaya berwarna yang sesuai dengan Panjang gelombang yang dipilih.

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 telah dilaksanakan $\pm$ 5 bulan dari bulan Februari- Juni di Laboratorium Kimia Bahan Alam 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), pinset, gelas ukur, labu ukur, cawan penguap, botol semprot, batang pengaduk, corong, vial, aluminium foil, botol meserasi, spatel, kertas saring, penggaris, beaker glass.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan yaitu ekstrak daun, bunga, buah, dan akar tumbuhan Senduduk (*Melastoma malabathricum* L.), etanol 96%, etanol PA, kloroform, kloroform amoniak, aquades, FeCl_3 logam Mg, HCl pekat, H_2SO_4 , norit, asam hidrat, asam sulfat, pereaksi mayer.

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Pengambilan Sampel

Sampel tanaman, yaitu tumbuhan Senduduk diambil di Muaro Labuah, Solok Selatan, Sumatra barat.

3.3.2 Identifikasi Sampel

Identifikasi sampel dilakukan untuk memastikan jenis tanaman yang digunakan dalam penelitian. Identifikasi dilaksanakan di Herbarium Andalas (ANDA) jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas (UNAND) Padang.

3.3.3 Penyiapan sampel

Penelitian dimulai dengan pengambilan daun, bunga, buah dan akar senduduk. Masing-masing diambil sebanyak 2 kg dari daerah Muaro Labuah, Kab Solok Selatan. Daun, bunga, buah dan akar senduduk dicuci dengan air mengalir dan ditiriskan. Daun, bunga, buah dan akar senduduk tersebut selanjutnya dikeringangkan dengan cara diangin-anginkan selama 5 hari. Lalu dirajang dan di blender sampai jadi serbuk simplisia dan ditimbang berat simplisia yang didapat (Badan Pom RI, 2004)

3.3.4 Pembuatan ekstraksi sampel daun, bunga, buah dan akar tumbuhan senduduk

Ekstraksi sampel dilakukan secara maserasi dengan pelarut etanol 96%. Masing-masing simplisia daun, bunga, buah dan akar senduduk sebanyak 250 gr dilarutkan dengan 2,5 liter etanol 96% dimasukkan ke dalam botol maserasi berwarna gelap kemudian direndam selama 3x24 jam. Penyaringan dilakukan menggunakan kertas saring untuk memisahkan ampas dan filtratnya. Proses maserasi ini diulang sebanyak 3x untuk mengoptimalkan penarikan senyawa metabolit sekunder yang ada pada sampel. Hasil filtrat yang diperoleh dari masing-masing ekstrak disatukan kemudian dipekatkan menggunakan rotary evaporator sampai pelarut habis

menguap sehingga didapat ekstrak kental. Setelah itu ditimbang (Badan pom RI, 2004)

3.4 Evaluasi ekstrak

Menurut Departemen Kesehatan Republik Indonesia (2000). Evaluasi Ekstrak yaitu:

3.4.1 Pemeriksaan Organoleptis

Pemeriksaan organoleptis bertujuan untuk mengetahui karakteristik suatu ekstrak pada sampel. Identifikasi dilakukan dengan pengamatan secara visual meliputi bentuk, warna, dan bau.

3.4.2 Uji Skrining Fitokimia

Ekstrak kental ditimbang sebanyak 0,5 gram, kemudian masukkan ke dalam 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

Lapisan air di letakkan 1-2 tetes 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

Lapisan air diletakan 1-2 tetes 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 Terpenoid dan steroid

Lapisan kloroform ditambahkan norit 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.

3.5 Uji Nilai SPF

Nilai *Sun Protection Factor* (SPF) secara *in-vitro* ditentukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Sebanyak 100 mg masing-masing ekstrak dilarutkan dalam labu ukur 100 ml dengan etanol pa sebagai larutan induk 1000 ppm.

Lalu dipipet 2,5 ml larutan induk kedalam labu ukur 10 ml untuk mendapatkan larutan 250 ppm. Dilakukan 3 kali pengulangan untuk setiap masing-masing sampel untuk larutan uji. Masing-masing larutan diukur serapannya pada rentang panjang gelombang 290 nm -320 nm dengan interval 5 nm. Mansur (1986) mengembangkan suatu metode operasi yang cepat dan sederhana untuk menentukan nilai SPF secara in vitro dengan menggunakan spektrofotometri. Nilai absorbansi dari setiap panjang gelombang dimasukkan ke dalam persamaan matematika metode Mansur.

Rumus :

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

Keterangan :

CF : *Correction factor* (factor koreksi) = 10

EE : Erythematous effect spectrum

I : Intensitas spektrum matahari pada panjang gelombang

Abs : Absorbansi produk tabir surya

Nilai EE x I adalah suatu ketetapan atau konstan. Ditentukan oleh Sayre *et al*, 1979 pada tabel berikut .

Tabel 2. Nilai EE X I

A	EE (λ) x I (λ)
290	0,0150
295	0,0817
300	0,2874
305	0,3278
310	0,1864
315	0,0837
320	0,0180
Jumlah	1

(Sumber. Sayre *et al*, 1979)

- a. Serapan diukur pada Panjang gelombang 290, 295, 300, 305, 310, 315, 320.
- b. Nilai serapan yang diperoleh dikalikan dengan nilai EE x 1 untuk masing-masing Panjang gelombang.
- c. Hasil perkalian serapan dan EE x 1 jumlahkan.
- d. Hasil penjumlahan kemudian di kalikan dengan faktor koreksi yang nilainya 10 untuk untuk mendapatkan nilai SPF

Nilai dari EE 1 adalah suatu konstanta. Nilainya dari Panjang gelombang 290-320 nm setiap selisih 5 nm telah ditentukan oleh sayre dkk (1979)

Analisis data:

Data yang diperoleh yaitu nilai SPF dari masing-masing ekstrak bagian tumbuhan senduduk secara in-vitro ditentukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis.