

**PENENTUAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN SPF
(*Sun Protection Faktor*) DARI FRAKSI ETIL ASETAT
EKSTRAK DAUN MARKISA KONYAL**

DRAFT PROPOSAL



Oleh:

ARIE PURWANINGSIH

NIM : 1904134

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

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sinar matahari merupakan sumber kehidupan bagi makhluk hidup, yang diperlukan manusia sebagai sumber energi dan tulang. Sinar matahari tidak selalu memberikan dampak yang menguntungkan, kandungan sinar ultraviolet yang terdapat didalamnya dapat memberi dampak buruk bagi kulit (Ismail, dkk., 2014). Penyinaran matahari yang terjadi secara berlebihan membuat jaringan epidermidis kulit tidak mampu melawan efek negatif sehingga dapat menyebabkan eritema dan sunburn (kulit terbakar), dan dapat menimbulkan perubahan degenerasi pada kulit (penuaan dini) dan kanker kulit (Ismail, dkk., 2014). Diperlukan suatu langkah untuk mengurangi paparan sinar matahari terhadap kulit, salah satunya dengan menggunakan tabir surya. Tabir surya merupakan suatu zat atau material yang dapat melindungi kulit terhadap radiasi sinar ultra violet.

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 membuat sediaan tabir surya.

Antioksidan merupakan senyawa metabolit sekunder yang digunakan untuk mencegah radikal bebas. Semakin tinggi aktivitas antioksidan, semakin banyak

radikal bebas yang dicegah. Semakin tinggi kadar senyawa fenolat pada satu bahan berarti akan menunjukkan tingginya aktivitas antioksidan. Tanaman yang mengandung fenolik dapat digunakan untuk pencegahan radikal bebas (Kate, 2014). Salah satu sumber antioksidan alami adalah tanaman markisa. Tanaman markisa merupakan tanaman yang berasal dari suatu famili tropis dan sub-tropis yang menyangkup banyak ragam, sebagian tumbuh di hutan, berbentuk semak belukar atau pohon kecil. Tumbuhan tropis banyak mengandung vitamin, mineral dan senyawa antioksidan yang sangat dibutuhkan oleh tubuh. (Monteiro, Beserra, Oliveira & de Bittencourt Pasquali, 2020)

Di Indonesia tanaman markisa konyal terdiri dari 4 jenis markisa yaitu, markisa ungu (*Passiflora edulis var. edulis*), markisa konyal (*Passiflora linguaris*), markisa ebis (*assiflora quadrangularis*) (Karsinah *et al.* 2007). Kandungan kimia dari daun, batang dan buah markisa adalah senyawa saponin, polifenol dan flavonoid. Senyawa yang berperan sebagai antioksidan yang terkandung didalam buah markisa adalah karotenoid, polifenol dan vitamin C (Faleiro *et al.*, 2019).

Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Savira (2022) dinyatakan bahwa hasil penetapan kadar fenolat total ekstrak etanol daun markisa konyal adalah sebesar 119,3367 mg/g dan untuk penentuan aktivitas antioksidannya dilakukan pada panjang gelombang maksimum 519 nm dan didapatkan nilai IC50 yang dihasilkan sebesar 74,48 µg/ml dengan kategori antioksidan kuat.

Berdasarkan uraian di atas, maka peneliti akan melakukan penelitian tentang Penentuan Aktivitas Antioksidan dan SPF (*Sun Protection Factor*) dari Fraksi Etil Asetat Ekstrak Daun Markisa Konyal menggunakan metode DPPH

untuk menguji aktivitas antioksidan dan penentuan nilai SPF dilakukan menggunakan spektrofotometri UV-Vis.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana aktivitas antioksidan dari fraksi etil asetat daun markisa konyal menggunakan metode DPPH?
2. Berapakah nilai SPF (*Sun Protection Factor*) dari fraksi etil asetat daun markisa konyal?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk menentukan aktivitas antioksidan dari fraksi etil asetat daun markisa konyal menggunakan metode DPPH
2. Untuk mengetahui nilai SPF (*Sun Protection Factor*) dari fraksi etil asetat daun markisa konyal

1.4 Hipotesa

- H₀ : Fraksi etil asetat ekstrak daun markisa konyal tidak memiliki aktivitas antioksidan dan SPF
- H₁ : Fraksi etil asetat ekstrak daun markisa konyal memiliki aktivitas antioksidan dan SPF

1.5 Manfaat Penelitian

1. Penelitian ini bermanfaat dalam pengembangan ilmu pengetahuan terutama di bidang farmasi
2. Untuk mengetahui dan memberi informasi mengenai antioksidan dari fraksi etil asetat daun markisa konyal
3. Untuk mengetahui dan memberi informasi nilai SPF (*Sun Protection Factor*) dari fraksi etil asetat daun markisa konyal

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Tanaman Markisa Konyal

2.1.1 Klasifikasi Tanaman Markisa Konyal

Tanaman markisa konyal berupa semak menjalar dengan panjang kurang lebih 10 m. Secara botani, tanaman konyal dapat diklarifikasikan sebagai berikut (Hermani, 2005) :

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Kelas : Angiospermae
Sub kelas : Dicotyledonae
Ordo : Paratales
Famili : Passifloraceae
Genus : Passiflora
Spesies : *Passiflora linguaris* f. *lobalata*



Gambar 1. Tanaman Markisa Konyal

(Steven Silva, 2015)

2.1.2 Nama Daerah

Markisa konyal memiliki nama lain seperti markisa bandung (Karo), passion fruit (Inggris), baixang guo (Cina), seawrs (Thailand), passievrucht (Belanda) dan buah susu (Malaysia) markisah (Melayu) dan buwah negri (Jawa) (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1999).

2.1.3 Morfologi Tumbuhan Markisa Konyal

Tanaman famili Passiflora memiliki akar tunggal dan akar serabut. Tanaman famili Passiflora berasal dari perbanyakan generatif memiliki akar tunggal, sedangkan tanaman yang berasal dari perbanyakan vegetatif (stek batang atau cabang) tidak memiliki akar tunggal. Percabangan akar tanaman markisa adalah intensif. Selanjutnya, sulur akar- akar pembelit yang tumbuh dari ketiak tangkai daun berperan utama untuk tegaknya batang dan cabang tanaman yang tumbuh selanjutnya (Pitojo *dkk*, 2010).

Tanaman markisa memiliki batang yang tipis, namun cukup keras. Setiap batang memiliki cabang yang ditumbuhi sulur dalam jumlah banyak. Cabang-cabang tanaman tumbuh saling tumpang tindih tidak beraturan dengan cabang-cabang tanaman lainnya. Bentuk batang tanaman markisa beruas-ruas dengan panjang sekitar 13-15 cm. Pada cabang baru atau cabang muda akan berwarna hijau, semakin tua cabang tanaman akan berubah menjadi warna cokelat tua. Batang berbentuk silindris berdiameter sekitar 10 cm dan berongga (Cahyono, 2017).

Daun markisa konyal berbentuk bulat sedikit lonjong dengan ujung daun meruncing dan tepi daunnya merata. Panjang daun sekitar 20,2 cm dan lebar daun 13,6 cm. Daun markisa tumbuh secara bergantian pada cabangnya dan

kedudukannya saling menyilang (tumbuh berselang-seling) pada setiap ruas cabangnya (Cahyono, 2017).

Bunga markisa merupakan bunga tunggal dan tumbuh pada ruas cabang di ketiak daun. Bunga markisa berukuran besar, berbentuk cawan yang unik. Bunga terdiri atas tangkai bunga, daun penumpu bunga yang berjumlah 3 helai. Pada daun *Passiflora lingularis* Juss berbentuk bulat lonjong dengan bagian ujung daun lancip dan bagian tepinya rata (Siregar dkk, 2018).

2.1.4 Kandungan Kimia Markisa

Pada daun, batang dan buah markisa terdapat kandungan senyawa saponin, polifenol dan flavonoid. Senyawa yang berperan sebagai antioksidan ditemukan didalam buah markisa adalah karotenoid, polifenol dan vitamin C (Faleiro *et al.*, 2019). Markisa konyal juga mengandung 2,5% flavonoid, alkaloid, asam organik, ester, gula, dan enzim (George dkk, 2017).

2.1.5 Kegunaan Tanaman Markisa

Buah markisa memiliki manfaat bagi kesehatan, karena memiliki kandungan nutrisi yang berkhasiat (Ovelando *et al.*, 2013). Markisa konyal atau bisa disebut juga markisa manis memiliki rasa yang manis dan menyegarkan, sangat enak dikonsumsi sebagai buah segar (Karsinah *et al.*, 2007).

Buah markisa dapat mengurangi ketegangan otot, menurunkan cemas, sakit kepala, kejang otot, dan menurunkan tekanan darah. Sedangkan, daunnya untuk insomnia. Selain itu markisa juga memiliki daya anti bakteri serta dapat pula untuk mengobati malaria (Mahkota, 2013).

2.2 Simplisia

2.2.1 Pengertian Simplisia

Simplisia adalah bahan alam yang telah dikeringkan yang digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan (Kementrian Kesehatan Republik Indonesia, 2017). Simplisia adalah bahan alamiah yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun, kecuali berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dibedakan menjadi 3 bagian yaitu simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelikan (mineral). Simplisia nabati merupakan simplisia yang berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan (eksudat tumbuhan). Eksudat tumbuhan merupakan isi sel yang secara langsung keluar dari tumbuhan atau isi sel dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya, atau senyawa nabati lainnya yang dengan cara tertentu dapat dipisahkan dari tumbuhannya dan belum berupa senyawa kimia murni (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

2.3 Ekstraksi

2.3.1 Pengertian Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Ekstrak awal sulit dipisahkan melalui teknik pemisahan tunggal untuk mengisolasi senyawa tunggal. Oleh karena itu, ekstrak awal perlu dipisahkan kedalam fraksi yang memiliki polaritas dan ukuran molekul yang sama (Mukhrani, 2014).

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat 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 (Ditjen POM, 1995).

2.3.2 Metode Ekstraksi

Menurut Departemen Kesehatan RI (2000), beberapa metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut yaitu :

1. Cara dingin

a. Maserasi

Maserasi adalah proses penyarian simplisia dengan cara perendaman menggunakan pelarut dengan sesekali pengadukan pada suhu kamar. Penambahan pelarut dilakukan setelah penyaringan terhadap maserat pertama dan seterusnya disebut remaserasi.

b. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi yang dilakukan dengan mengalirkan pelarut baru melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi menggunakan percolator yang biasanya dilakukan pada suhu ruangan. Prosesnya terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetasan atau pengampungan ekstrak) dan terus menerus sampai diperoleh ekstrak perkolat yang jumlahnya 1-5 kali bahan.

2. Cara panas

a. Refluks

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

b. Soxhlet

Soxhlet adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut yang relatif konstan dengan adanya pendinginan balik.

c. Digesti

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

d. Infus

Infus adalah 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 adalah infus pada waktu yang lebih lama yaitu 30 menit dengan suhu 90°C

2.4 Fraksinasi

Fraksinasi pada prinsipnya adalah proses penarikan senyawa pada suatu ekstrak dengan menggunakan dua macam pelarut yang tidak saling bercampur.

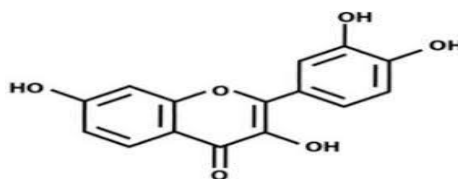
Pelarut yang umumnya dipakai untuk fraksinasi adalah n-heksan, etil asetat, dan metanol. Untuk menarik lemak dan senyawa non polar digunakan n-heksan, etil asetat untuk menarik senyawa semi polar, sedangkan metanol untuk menarik senyawa-senyawa polar. Dari proses ini diduga sifat kepolaran dari senyawa yang akan dipisahkan. Sebagaimana diketahui bahwa senyawa-senyawa yang bersifat non polar akan larut dalam pelarut yang non polar sedangkan senyawa-senyawa yang bersifat polar akan larut dalam pelarut yang bersifat polar juga (Mutiasari, 2012).

Tujuan umum fraksinasi adalah untuk menyederhanakan komposisi dan homogenitas sifat zat sehingga lebih mudah dimurnikan atau diisolasi menjadi senyawa tunggal atau zat murni (Harbone, 1987)

2.5 Tinjauan Fitokimia

2.5.1 Flavonoid

Flavanoid adalah metabolit sekunder dari polifenol, ditemukan secara luas pada tanaman serta makanan dan memiliki berbagai efek bioaktif termasuk anti virus, anti-inflamasi (Qinghu wang dkk, 2016), kardioprotektif, anti diabetes, anti kanker (M.M. Marzouk, 2016), anti penuaan, antioksidan (Vanessa dkk, 2014) dan lain lain. Senyawa flavonoid adalah senyawa polifenol yang mempunyai 15 atom karbon yang tersusun dalam konfigurasi C₆-C₃-C₆, artinya kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C₆ (cincin benzene tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga karbon (Tiang-Yang dkk, 2018).

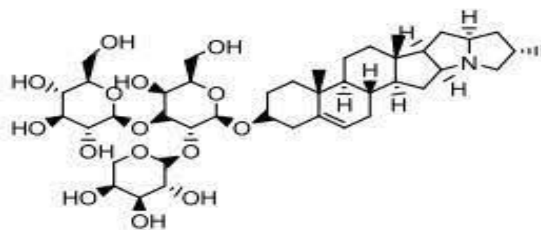


Gambar 2. Kerangka C₆ –C₃–C₆ Flavonoid

Kelompok flavonoid merupakan senyawa berwarna kuning, dan berperan pada warna kuning bunga dan buah, yang mana flavonoid ini berada sebagai glikosida. Flavonoid dapat dikelompokkan sesuai dengan asal mula biosintesisnya. Beberapa flavonoid merupakan zat antara dalam biosintesis dan dalam biosintesis produk akhir seperti kalkon, flavanon, flavanol-3-ol dan flavan-3,4-diol. Kelompok-kelompok yang lain hanya diketahui sebagai produk akhir biosintesis seperti antosianin, flavo dan flavonol. Dua kelompok flavonoid selanjutnya adalah flavonoid yang mana rantai samping 2-fenil mengalami isomerase pada posisi 4- (memberikan neoflavonoid) (Saker & Lutfun, 2009). Senyawa flavonoid yang bersifat antioksidan diantaranya katekin, flavon, flavanon, flavonol, kalkon, dan isoflavon (Markham, 1982).

2.5.1 Saponin

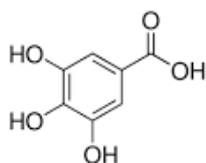
Saponin mempunyai bagian utama berupa turunan triterpene dengan sedikit steroid. Residu gula dihubungkan oleh gugus-OH biasanya C3-OH dari aglikon (monodesmosida saponin) dan jarang dengan 2 gugus OH atau satu gugus OH dan satu gugus karboksil (Bis-desmosida saponin) (Mustarichie dkk, 2011). Pembentukan busa sewaktu mengekstraksi tumbuhan atau waktu memekatkan ekstrak tumbuhan merupakan bukti adanya saponin. Bila di dalam tumbuhan terdapat banyak saponin, sukar untuk memekatkan ekstrak alkohol-air dari tumbuhan dalam tabung reaksi dan perhatikan apakah ada terbentuk busa tahan lama pada permukaan cairan. Pengujian saponin dengan memasukkan 1 mg sampel ke dalam tabung reaksi. Tambahkan 1 ml aquadest, kemudian dikocok dan diadukan. Jika terbentuk buih yang tidak menghilang selama 30 menit, maka bahan tersebut mengandung saponin (Mustarichie dkk, 2011).



Gambar 3. Struktur saponin

2.6 Asam Galat

Asam galat (asam 3,4,5-trihidroksi benzoat) adalah senyawa golongan asam fenolik atau hidroksibenzoat. Gugus fungsi pada struktur asam galat yang akan bertanggung jawab memberikan aktivitas antioksidan adalah 3 gugus hidroksil (Lopez *et al.*, 2003).



Gambar 4. Struktur Asam Galat (Junaidi,eka dkk., 2018)

Suatu senyawa memiliki kemampuan sebagai antioksidan dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu jumlah gugus fenol, posisi gugus -OH dalam senyawa (Borra *et al.*, 2013). Struktur asam galat memiliki gugus fungsional -OH yang mampu bereaksi dengan radikal bebas sehingga menghindari proses oksidasi lebih lanjut. Menurut Marino *et al.*, (2014), asam galat mampu bereaksi dengan radikal bebas peroksi dan hidroksi peroksi yang terbentuk dari reaksi oksidasi. Radikal asam galat yang terbentuk distabilkan melalui interaksi dua ikatan hidrogen pada posisi ortho (Badhani *et al.*, 2015). Asam galat termasuk dalam golongan antioksidan alami yang dimanfaatkan sebagai pengawet makanan (Lopez *etal.*, 2003).

2.7 Radikal Bebas

2.7.1 Pengertian Radikal Bebas

Radikal bebas didefinisikan sebagai atom atau molekul dengan satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan dan bersifat tidak stabil, berumur pendek dan sangat reaktif untuk menarik elektron molekul lain dalam tubuh untuk mencapai stabilitas yang dapat menyebabkan potensi kerusakan pada biomolekul dengan merusak integritas lipid, protein dan DNA yang mengarah pada peningkatan oksidatif seperti penyakit neurodegeneratif, diabetes melitus, penyakit kardiovaskuler, proses penuaan dini bahkan kanker (Phaniendra, et al., 2015).

2.7.2 Pembentukan Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan sekelompok bahan kimia berupa molekul maupun atom yang memiliki elektron tidak berpasangan pada lapisan luarnya. Apabila dua radikal bebas bertemu, akan membentuk ikatan kovalen. Pada dasarnya molekul biologi tidak ada yang bersifat radikal. Apabila molekul non radikal bertemu dengan radikal bebas, maka akan terbentuk suatu molekul radikal yang baru. Dapat dikatakan radikal bebas bersifat tidak stabil dan selalu berusaha mengambil elektron dari molekul di sekitarnya, sehingga radikal bebas bersifat toksik terhadap molekul biologi atau sel. Radikal bebas dapat mengganggu produksi DNA, lapisan lipid pada dinding sel, mempengaruhi pembuluh darah, produksi prostaglandin, dan protein lain seperti enzim yang terdapat dalam tubuh (Werdhasari, 2014)

Radikal bebas yang mengambil elektron dari DNA dapat menyebabkan perubahan struktur DNA sehingga timbul sel-sel mutan. Bila mutasi ini terjadi berlangsung lama dapat menjadi kanker. Radikal bebas juga berperan dalam proses menua, dimana reaksi inisiasi radikal bebas di mitokondria menyebabkan

diproduksinya *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang bersifat reaktif. Radikal bebas dapat dihasilkan dari hasil metabolisme tubuh dan faktor eksternal seperti asap rokok, hasil penyinaran ultra violet, zat kimiawi dalam makanan dan polutan lain (Werdhasari, 2014). Tubuh manusia dapat menetralsir radikal bebas bila jumlahnya tidak berlebihan. Mekanisme pertahanan tubuh dari radikal bebas adalah berupa antioksidan di tingkat sel, membran, dan ekstra sel (Werdhasari, 2014). Mekanisme reaksi pembentukan radikal bebas dapat dibagi menjadi 3 tahapan reaksi, yaitu:

a. Tahap inisiasi

Tahap inisiasi adalah pembentukan awal dari radikal-radikal bebas (Fessenden, 1986). Reaksi ini terjadi melalui pemecahan rantai hemolitik (yang memerlukan panas atau cahaya) sehingga membentuk radikal.

b. Propagasi

Propagasi adalah pembentukan radikal bebas akan mengakibatkan terbentuknya radikal bebas dengan suatu reaksi yang disebut reaksi rantai (Fessenden, 1986).

c. Terminasi

Reaksi rantai yang terjadi akan berhenti pada tahap terminasi yaitu Ketika radikal bebas bergabung dengan radikal bebas yang lain sehingga tidak membentuk radikal bebas yang baru (Fessenden, 1986).

2.8 Antioksidan

Antioksidan adalah zat yang dapat menangkal atau mencegah reaksi oksidasi yang disebabkan oleh radikal bebas. Antioksidan mampu menghambat radikal bebas dan mengubahnya menjadi senyawa non radikal. Antioksidan pada telah

terdapat di dalam tubuh manusia, namun saat pasokan radikal bebas terlalu banyak di dalam tubuh maka antioksidan dari luar sangat dibutuhkan (Romansyah, 2011).

2.8.1 Klasifikasi Antioksidan

Berdasarkan sumbernya antioksidan dibagi menjadi 3, yaitu:

1. Antioksidan dihasilkan oleh tubuh

Antioksidan ini berupa enzim antara lain glutathione peroxide, dan katalase.

2. Antioksidan alami

Antioksidan yang diperoleh dari hasil metabolisme hewan atau ekstraksi tumbuhan. Yang termasuk antioksidan alami yaitu vitamin C, flavonoid, betakaroten dan senyawa fenolat.

3. Antioksidan sintetik

Antioksidan alami yang telah diproduksi secara sintetis untuk tujuan komersial. Antioksidan sintetik yang sering digunakan adalah butil hidroksil anisol (BHA), Butil Hidroksil Toluen (BHT), Tert butil hidrokuinon (TBHQ) dan pupil galat (PG).

Berdasarkan mekanisme reaksinya, antioksidan dibagi menjadi 3 yaitu:

1. Antioksidan primer

Merupakan antioksidan yang menghambat atau memutuskan mekanisme radikal bebas pada proses autooksidasi, dimana antioksidan ini berperan sebagai donor hidrogen dan sebagai akseptor elektron. Yang termasuk kedalam antioksidan primer yaitu enzim superoksida dismutase (SOD), Katalase dan glutathione peroxidase (GSH- Px).

2. Antioksidan sekunder

Antioksidan sekunder dikenal juga sebagai antioksidan preventif karena sifatnya yang menurunkan kecepatan reaksi inisiasi melalui berbagai mekanisme. Antioksidan sekunder berkerja menangkap radikal bebas, kemudian mencegah aktivitas amplifikasinya. Contohnya asam sitrat dan asam askorbat.

3. Antioksidan Tersier

Antioksidan ini berfungsi untuk memperbaiki sel-sel dan jaringan tubuh yang rusak disebabkan oleh radikal bebas. Contoh dari antioksidan tersier umumnya adalah enzim metionin sulfoksidan reduktase yang dapat memperbaiki DNA dalam inti sel. Enzim metionin sulfoksidan reduktase sangat dibutuhkan tubuh untuk mencegah penyakit kanker.

2.8.2 Metode DPPH (1-diphenyl-2-picrihidrazil)

Metode DPPH merupakan metode yang cepat, sederhana, dan tidak membutuhkan biaya tinggi dalam menentukan kemampuan antioksidan menggunakan radikal bebas 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (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 disubsitusikan dalam persamaan linier kemudian diinterpretasikan oleh IC_{50} . Persen inhibisi adalah perbandingan antara selisih dari absorbansi blanko dengan absorbansi sampel (Erlindawati, 2018).

Penentuan aktivitas antioksidan sebagai jenis makanan dengan menggunakan DPPH sebanding dengan metode lainnya. Analisis antioksidan dengan metode lain mungkin terbatas pada senyawa yang larut dalam pelarut yang dipilih. Keuntungan dari metode ini adalah bahwa DPPH mampu bereaksi dengan keseluruhan sampel dan waktu yang cukup diberikan dalam metode ini memungkinkan DPPH bereaksi perlahan meskipun disertai antioksidan lemah (Prakash, 2001). Metode DPPH dapat digunakan dalam pelarut organik berair dan nonpolar dan dapat digunakan untuk memeriksa antioksidan hidrofilik dan lipofilik (Molyneux, 2004).

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode perendaman radikal bebas DPPH berdasarkan prinsip kerjanya pada sampel (mengandung senyawa bersifat antioksidan) yang dapat merendam radikal bebas (DPPH).

Tabel 1. Tingkat kekuatan antioksidan dengan metode DPPH (Kate DI,2014)

Intensitas	Sangat Kuat	Kuat	Sedang	Lemah
IC ₅₀	< 50 $\mu\text{g/ml}$	50-100 $\mu\text{g/ml}$	101-150 $\mu\text{g/ml}$	>150 $\mu\text{g/ml}$

2.9 Sun Protection Factor (SPF)

Efektivitas dari suatu sediaan tabir surya dapat ditunjukkan melalui 2 cara yaitu dengan penentuan nilai SPF, persentase transmisi eritema (%Te) dan persentase tranmisi pigmentasi (%Tp). SPF didefinisikan sebagai jumlah energi UV yang dibutuhkan untuk mencapai *Minimal Erythema Dose* (MED) pada kulit yang dihubungi oleh suatu tabir surya, dibagi dengan jumlah energi UV yang dibutuhkan untuk mencapai MED pada kulit yang diberikan perlindungan. Semakin besai nilai SPF, maka semakin besar perlindungan yang diberikan oleh produk tabir surya tersebut (Wikinson & Moore,1982). MED didefinisikan sebagai waktu jangka terendah atau dosis radiasi sinar UV yang dibutuhkan untuk menyebabkan terjadinya eritema (Wolf,2001).

Table 2.1 Keefektifan Sediaan Tabir Surya Berdasarkan Nilai SPF

No	Nilai SPF	Kategori Tabir Surya	Proteksi
1	2-4	Proteksi maksimal	
2	4-6	Proteksi sedang	
3	6-8	Proteksi ekstra	
4	8-15	Proteksi maksimal	
5	≥ 15	Proteksi ultra	

Sumber : walkison & Moore,1982

Pengujian aktivitas secara *in vivo* dapat dilakukan dengan cara mengamati eritema akibat paparan UV dan dibandingkan dengan kontrol. Pengujian aktivitas

serapan sinar UV secara *in vitro* dapat dilakukan dengan Teknik spektroskopi UV yang diukur pada Panjang gelombang ultraviolet 200-400 nm (Tahir *et al.* 2002). Metode pengukuran nilai SPF secara *in vitro* secara umum terbagi dalam dua tipe, yaitu :

- 1) Dengan mengukur serapan atau transmisi radiasi UV melalui produk tabir surya pada plat kuarsa atau biomembran

Tabel 2.2 Keefektifan Sediaan Tabir Surya Berdasarkan %Te dan %Tp

Kategori Penilaian	Rentang sinar UV yang ditransmisi	
	%Te	%Tp
Sunblock	<1	3-40
Proteksi Ekstra	1-6	42-86
Suntan Standar	6-12	45-86
Fast Tanning	10-18	45-86

Sumber: Balsam,1972

- 2) Dengan menentukan karakteristik serapan tabir surya menggunakan analisis secara spektrofotometri larutan hasil pengenceran dari tabir surya yang diuji (Fourneron *et al.*, 1999).

2.9.1 Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Visible merupakan Teknik spektroskopik yang menggunakan sumber radiasi elektromagnetik ultraviolet dekat (190-360 nm) dan sinar tampak (380-780 nm) dengan instrument spektrofotometer. Distribusi elektron di dalam suatu senyawa organik secara umum yang dikenal sebagai orbital elektron pi (π), sigma (σ), dan elektron tidak berpasangan (n). apabila pada molekul dikenakan radiasi elektromagnetik UV atau Visible maka akan terjadi eksitasi elektron ke tingkat yang lebih tinggi yang di kenal sebagai orbital elektron *anti bonding* (Ditjen POM,1979). Penerapan spektrofotometer UV-Vis pada senyawa organik didasarkan pada transisi $n-\pi^*$ ataupun $\pi-\pi^*$. Transisi ini terjadi

dalam daerah spektrum sekitar 200 ke 700 nm yang digunakan dalam eksperimen dan karenanya memerlukan gugus kromofor dalam molekul itu. Kromofor adalah gugus tak jenuh kovalen yang dapat menyerap radiasi dalam daerah-daerah UV dan visible. Pada senyawa organik dikenal pula gugus auksokrom yaitu gugus jenuh yang terikat pada kromofor. Terikatnya gugus auksokrom pada kromofor dapat mengubah Panjang gelombang dan intensitas serapan maksimum (Depkes RI,1995).

Spektrum absorbansi UV-Visible absorbansi sangat berguna untuk pengukuran secara kuantitatif. Konsentrasi dari analit di dalam larutan bisa ditentukan dengan mengukur absorbansi pada Panjang gelombang tertentu dengan menggunakan hukum Lambert-Beer (Pratama & Zulkarnain,2015). Hukum Lambert-Beer menyatakan bahwa intensitas yang diteruskan oleh larutan zat penyerap berbanding lurus dengan tebal dan konsentrasi larutan.

$$A = a.b.c$$

Keterangan :

A = Absorbansi

a = Absorptivitas molar

b = Tebal kuvet (cm)

c = Konsentrasi

Absorptivitas molar merupakan suatu konstanta yang tidak tergantung pada konsentrasi, tebal kuvet dan intensitas radiasi yang mengenai larutan sampel. Absorptivitas molar tergantung pada suhu, pelarut, struktur molekul, dan Panjang gelombang radiasi. Persyaratan berlakunya hukum Lambert-Beer adalah sebagai berikut (Rohman,2007) :

1. Sinar yang digunakan di anggap monokromatis
2. Penyerapan terjadi dalam satu volume yang mempunyai penampang luas yang sama
3. Senyawa yang menyerap dalam larutan tersebut tidak tergantung terhadap yang lain dalam larutan tersebut.
4. Tidak terjadi peristiwa fluoresensi atau fosforisensi
5. Indeks bias tidak tergantung pada konsentrasi larutan.

Menurut Khopkar (2008), dasar dari spektrofotometer UV-Vis berupa susunan peralatan yaitu :

a. Sumber cahaya

Sumber cahaya yang digunakan pada spektrofotometri absorbansi adalah lampu wolfram dan pada daerah UV digunakan lampu hydrogen. Kelebihan dari lampu wolfram adalah energi radiasi yang dibebaskan tidak bervariasi pada berbagai Panjang gelombang

b. Monokromator

Alat yang dapat memecahkan cahaya polikromatis menjadi cahaya tunggal. Monokromator berfungsi untuk mendapatkan radiasi monokromator dari sumber radiasi yang memancarkan radiasi polikromatis.

c. Kuvet (Wadah Sampel)

Wadah sampel yang akan dianalisis, dipakai untuk Analisa kualitatif maupun kuantitatif pada pengukuran 190-400 nm dan kuvet berbahan gelas pengukuran 380-800 nm yang dapat mengabsorpsi radiasi UV

d. Detektor

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

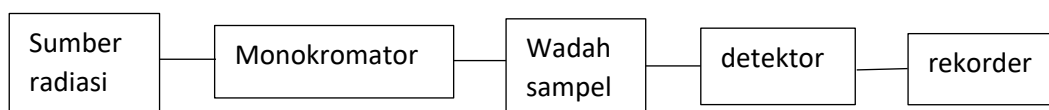
e. Visual display / recorder

Sistem baca terhadap besarnya isyarat listrik yang menyatakan dalam % transmitan maupun absorpsi

2.9.2 Prinsip Kerja Spektrofotometri UV-Vis

Sinar 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 dapat 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 cahaya yang dilewatkan. Cahaya yang dilewatkan 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 dapat diketahui konsentrasi zat dalam sampel secara kuantitatif (Dachriyanus,2004)

Pada umumnya konfigurasi dasar dari spektrofotometer UV-Vis berupa susunan peralatan adalah sebagai berikut :



BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan selama $\pm$ 5 bulan di Laboratorium Kimia Farmasi dan Laboratorium Kimia Bahan Alam Fakultas Farmasi Universitas Perintis Indonesia (UPERTIS), kota Padang, Sumatera Barat.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

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

3.2.2 Bahan

Bahan yang akan digunakan adalah daun buah markisa konyal, etanol 96%, etanol 70%, kloroform, kloroform amoniak, aquadest, logam Mg, HCL (p), H₂SO₄ (p), FeCl₃, norit, n-heksana, asam galat, asetat anhidrat, etil asetat, metanol, natrium karbonat, 2,2-difenil -1-pikrilhidrazil (DPPH), reagen mayer.

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan adalah daun buah markisa konyal yang di peroleh 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 panelitian markisa konyal dilakukan di Herbarium Universitas Andalas, Jurusan Biologi, Fakultas Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA), Padang, Sumatera Barat.

3.3.3 Ekstraksi Sampel Daun Markisa Konyal

1. Preparasi Daun Markisa Konyal

Simplisia dibuat dari 3 kg daun markisa konyal segar yang kemudian dibersihkan dari kotoran yang menempel pada daun markisa. Untuk membersihkan kotoran yang menempel pada daun markisa konyal memerlukan air mengalir sehingga kotoran yang terlepas tidak menempel lagi kemudian dikering anginkan di tempat yang terlindung cahaya matahari selama kurang lebih 7 hari. Setelah kering sampel dihaluskan dengan menggunakan blender. Sampel kemudian ditimbang kembali, lalu ekstraksi secara maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70%, maserasi dilakukan selama 3 hari sambil sesekali diaduk, kemudian maserat disaring dan disimpan pada tempat gelap. Proses pengulangan maserasi selanjutnya menggunakan etanol 96%, maserasi dilakukan sampai filtrat terlihat bening atau tidak bewarna lagi. Selanjutnya filtrat yang sudah disaring disatukan dan dipekatkan menggunakan *Rotary evaporator* pada suhu 40°C – 50°C sehingga diperoleh ekstrak total pekat (Harbone,1987).

2. Penentuan Rendemen Ekstrak (Departemen Kesehatan Republik Indonesia,2000)

Timbang daun markisa konyal, kemudian hasil ekstraksi yang diperoleh ditimbang Kembali. Hitung rendemen dengan rumus:

$$\text{Rendemen \%} = \frac{\text{berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{berat sampel kering}} \times 100\%$$

3.3.4 Fraksinasi Ekstrak Daun Markisa Konyal

Ekstrak etanol daun markisa konyal sebanyak 25 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 ulangi lagi sampai lapisan n-heksan terlihat jernih (fraksi n-heksan).

Lapisan air kemudian difraksinasi dengan etil asetat 100 ml ke dalam 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*.

3.3.5 Karakteristik Fraksi Etil Asetat Ekstrak Daun Markisa Konyal (Departemen Kesehatan RI, 2011)

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

1. Pemeriksaan Organoleptis

Untuk mengetahui karakteristik fraksi etil asetat daun markisa konyal, maka identifikasi dilakukan dengan cara pengamatan secara visual meliputi bentuk, warna, dan bau.

2. Pemeriksaan Susut Pengeringan

Keringkan krus porselen beserta tutupnya di dalam oven pada suhu 105°C selama 30 menit dan dibiarkan dingin, lalu timbang beratnya. Masukkan fraksi etil asetat daun markisa konyal ke dalam krus hingga beratnya 1 gram diluar krus agar sampel merata dan masukkan kembali ke dalam oven, buka tutupnya dan biarkan tutup tetap berada di dalam oven. Krus yang telah berisi sampel dipanaskan dalam oven dengan suhu 105°C selama 1 jam. Setelah itu krus dikeluarkan dan didinginkan dalam desikator, lalu timbang. Lakukan pengulangan seperti cara di atas hingga diperoleh berat yang konstan.

Berikut merupakan rumus perhitungan susut pengeringan:

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

Keterangan :

A = Berat krus kosong

B = Berat krus + sampel sebelum dipanaskan

C = Berat krus + sampel setelah dipanaskan

3. Pemeriksaan Kadar Abu

Sampel kental ditimbang sebanyak 2 gram dan 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).

Rumus Perhitungan Kadar Abu

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

Keterangan:

A = Berat kurs kosong

B = Berat kurs + sampel sebelum dipanaskan

C = Berat kurs + sampel setelah dipanaskan

4. Penentuan Rendemen Fraksi Etil Asetat Ekstrak Daun Markisa Konyal

Timbang fraksi etil asetat daun markisa konyal, kemudian hasil fraksinasi yang diperoleh ditimbang kembali. Hitung rendemen dengan rumus:

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

5. Identifikasi Metabolit Sekunder dari Fraksi Daun Markisa Konyal (Harbone,1987).

Timbang fraksi etil asetat daun markisa konyal sebanyak 0,5 gram, ditambahkan kloroform dan aquadest (1:1) 10 ml, kocok dengan baik, lalu masukkan kedalam tabung reaksi, dan biarkan sejenak sampai terbentuk dua lapisan.

Lapisan air untuk pemeriksaan: flavonoid, fenolat, dan saponin.

Lapisan kloroform untuk pemeriksaan: terpenoid, steroid, dan alkaloid.

a. Uji Fenolik

Letakkan 1-2 tetes lapisan air pada plat tetes, kemudian tambahkan 1-2 tetes pereaksi FeCl_3 5%, terbentuknya warna biru menunjukkan adanya senyawa fenolik.

b. Uji Flavonoid

Ambil 1-2 tetes lapisan air letakkan pada plat tetes, ditambahkan sedikit logam Magnesium (Mg) dan 1-2 tetes HCl pekat. Timbulnya warna orange kemerahan menunjukkan adanya senyawa flavonoid.

c. Uji Saponin

Lapisan air dikocok kuat dalam tabung reaksi hingga terbentuk busa yang tidak hilang selama ± 15 menit, ini menunjukkan adanya saponin.

d. Uji Steroid dan Terpenoid

Diambil sedikit lapisan kloroform ditambahkan norit kemudian disaring. Hasil saringan diteteskan pada plat tetes. Biarkan kering lalu tambahkan asam anhidrat dengan H_2SO_4 pekat, terbentuknya warna biru ungu menandakan adanya steroid, sedangkan bila terbentuk warna merah menandakan adanya terpenoid.

e. Uji Alkaloid

Ambil 1 ml lapisan kloroform ditambahkan 1 ml kloroform amoniak 0,05 N dan 1 ml asam sulfat 2 N, kemudian kocok perlahan dan biarkan memisah. Lapisan asam dipipet dan dipindahkan kedalam tabung reaksi lain kemudian tambahkan beberapa tetes pereaksi mayer. Reaksi positif ditandai dengan adanya kabut putih hingga gumpalan putih.

3.3.6 Pembuatan Reagen

a. Pembuatan Larutan Induk Asam Galat (500 ppm) (Alfian,2013)

Sebanyak 12,5 mg asam galat dimasukkan kedalam labu ukur 25 ml dilarutkan dengan 0,5 ml metanol. Kemudian ditambahkan aquadest sampai tanda batas hingga diperoleh konsentrasi larutan 500 ppm.

b. Pembuatan Larutan DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) 35 ppm (Molyneux,2004).

Timbang 10 mg DPPH masukkan dalam labu ukur 100 mL, lalu tambahkan metanol sampai tanda batas. Kemudian pipet 17,5 ml larutan DPPH masukkan

dalam labu ukur 50 ml, lalu tambahkan metanol sampai tanda batas sehingga diperoleh larutan konsentrasi 35 ppm.

3.3.7 Pembuatan Larutan Sampel

Sebanyak 25 mg dari fraksi etil asetat daun markisa dilarutkan dengan 0,5 ml metanol p.a, kemudian tambahkan dengan aquadest sampai volume pada labu ukur menjadi 25 ml, sehingga diperoleh larutan induk ekstrak 1000 ppm.

3.3.8 Penentuan Aktivitas Antioksidan dengan Metoda DPPH

1. Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum DPPH (Mosquera dkk,2007)

Dipipet sebanyak 4 ml larutan DPPH 35 ppm yang baru dibuat, masukkan ke dalam vial, lalu tambahkan 2 ml campuran metanol dan aquadest (1:1) dan diamkan selama 30 menit ditempat yang gelap. Ukur serapan dengan spektrofotometer UV-Vis pada Panjang gelombang maksimum.

2. Penentuan Aktivitas Antioksidan Standar Asam Galat

Dipipet 5 ml larutan induk asam galat 500 ppm kemudian dilarutkan dalam campuran metanol p.a 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 p.a 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 maksimum. Tentukan aktivitas antioksidan dengan menghitung % inhibisi (hambatan). (Pourmorad dkk,

2006). IC₅₀ asam galat adalah konsentrasi larutan pembanding yang memberikan inhibisi sebesar 50% yang dapat dihitung dengan menggunakan regresi linear yang diperoleh (Verawati,2017).

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

Dari larutan induk 1000 ppm dipipet 10 ml, kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 100 ml ad kan 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 diamkan selama 30 menit ditempat gelap, ukur serapan dengan menggunakan Spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang serapan maksimum. Tentukan aktivitas antioksidan dengan menghitung % inhibisi (hambatan) dan IC₅₀.

3.4 Analisis Data

3.4.1 Penentuan aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Daun Markisa Konyal

Aktivitas antioksidan sampel ditentukan dari besaran hambatan serapan radikal DPPH.

1. % Inhibisi

$$\% = \frac{\text{Absorban kontrol} - \text{Absorban sampel}}{\text{Absorban kontrol}} \times 100\%$$

Keterangan :

Absorban kontrol = Serapan larutan radikal DPPH 35 µg/mL

Absorban Sampel = Serapan larutan sampel dalam larutan DPPH 35 µg/mL

2. Nilai IC₅₀

Nilai IC₅₀ adalah bilangan yang memberikan konsentrasi ekstrak yang mampu menghambat aktivitas radikal sebesar 50%. Untuk menentukan IC₅₀ memerlukan persamaan kurva standar dari persen inhibisi sebagai sumbu y dan konsentrasi ekstrak antioksidan sebagai sumbu x. Nilai IC₅₀ dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linier. 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 yang didapatkan semakin tinggi aktivitas antioksidannya.

$$Y = a + bx$$

3. Penentuan nilai SPF (*Sun Protection Factor*)

Pada penentuan nilai SPF pada fraksi etil asetat daun markisa konyal digunakan konsentrasi 250, 500, 1000 ppm. Konsentrasi 250 ppm dan 500 ppm dibuat dari larutan induk sampel 1000 ppm. Larutan induk dipipet sebanyak 2,5 ml dan 5 ml, kemudian dimasukkan 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 panjang gelombang 290-320 nm dengan interval 5 nm. Metanol digunakan sebagai blanko. Hasil absorbansi masing-masing konsentrasi dicatat dan kemudian nilai SPF dihitung menggunakan metode Mansur (Yulianti, 2015). Nilai SPF dianalisis menggunakan metode mansur:

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

Keterangan :

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

Nilai EE x I adalah suatu ketetapan atau konstan. Ditentukan oleh Mansur dkk, 1986

pada table berikut:

Panjang Gelombang (nm)	EE x I
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.
- AEH Siregar, T Gultom. 2018. Karakterisasi Morfologi Markisa (*Passiflora*) di Kabupaten Karo Sumatera Utara. Digilib. Unimed. Ac.id
- Amanda, Savira Tia. 2022. Penetapan Kadar Fenolat Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Markisa Konyal (*Passiflora lingularis* f. *lobolata*) menggunakan spektrofotometri UV-Vis. *Skripsi*. Padang. Fakultas Farmasi Universitas Perintis Indonesia.
- Balsam MS & Segarin, E. 1972. *Cosmetic Science and Technology*. 2nd Ed. Wilwy Interscience Loondon.
- Bandani, B, Sharma, N., and Kakkar, R., 2015. Gallic Acid: a Versatile Antioxidant with Promising Therapeutic and Industrial Applications. *RSC Adv*; 5: 27540-27557.
- Borra, S. K. Gurumurthy, P., Mahendra, J., K.M. Jayamathi, C. N. Cherian, and Chand, R., 2013. Antioxidant and Free Radical Scavenging Activity of Curcumin Determined by Using Different in Vitro and ex Vivo Models. *Journal of Medicinal Plants Research*; 7(36):2680-2690.
- Cahyono, Bambang. 2017. *Meraih keuntungan dari berkebun Markisa Budi Daya Intensif Pertanian Organik dan Anorganik*. Bandung. Srikardi Empat.
- Dachriyanus., 2004. *Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektrofotometri*. Hal 1-37, Andalas University Press. Padang.
- Departemen Kesehatan Indonesia. 1995. *Farmakope Indonesia*. Ed ke 4. Departemen Kesehatan RI: Jakarta
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1999. *Indonesia Sehat 2010, Visi Baru, Misi Kebijaksanaan dan strategi Pembangunan Kesehatan*, Jakarta.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan : Jakarta.
- Dirjen POM. 1995. *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Jakarta : Depkes RI.
- Dirjen POM. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tanaman Tumbuhan Obat. Cetakan Pertama*. Jakarta: Depkes RI.
- Dutra, E. A., Oliveira, D.A., Kedorhackman, E.R., Santoso, M.I. 2004. Determination of Sun Protection Factor (SPF) of Sunscreen by Ultraviolet Spektrofotometri. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 40,381-385
- 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).

- Fessenden, R.J., dan J. S. Fessenden., 1986. *Kimia Organik Edisi Ketiga Jilid 2*. Terjemahan Oleh A.H. Pudjaatmaka, Erlangga, Jakarta.
- Fourneron, J.D., et al. 1999. Sur la Measure In Vitro de la Protection Solaire de Cremes Cosmetics. Paris: C.R.Acad.Sci.
- George M, Joseph L dan Saji J. 2017. A review on screening of antidiabetic activity of *Passiflora ligularis*. *The Pharma Innovation Journal*. 6(7) : 6-7
- Haeria. 2014. *Kimia Produk Alami*. Makassar : Alauddin University Press
- Harbone, J. B. 1987. *Metode Fitokimia*, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Bandung. Institut Teknologi Bandung.
- Hermani dan Raharjo, M., 2005. *Tanaman Berkhasiat Antioksidan , Cetakan I*. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Isriany Ismail, Gemy Nastity Handayany, Dwi Wahyuni, Juliandri. 2014. *Formulasi dan Penentuan nilai SPF (Sun Protecting Factor) Sediaan Krim Tabir Surya Ekstrak Etanol Daun Kemangi (Ocimum sanctum L.)*. JF FIK UINAM. Makassar.
- Karsinah, K., Silalahi, F., & Manshur, A. 2007. Eksplorasi dan Karakterisasi Plasma Nutfah Tanaman Markisa. *Jurnal Hortikultura*, 17(4)
- Kate, D. I. 2014. *Penetapan Kandungan Fenolik Total dan Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-pikrilhydrazil) Ekstrak Metanolik Umbi Bidara Upas (Merremia mammosa (Lour) Hallier f.)*. Journal Ilmiah.
- Khopkar, S. M. 2008. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta : UI-Press
- Lopez, & Snyder, C. R. 2003. *Positive Psychological Assement a Handbook of Models & measures*. Washington. DC: APA
- 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.
- Marino, T. Galano, A., and Russo, N., 2014. Radical Scavenging Ability of Gallic Acid Toward OH and OOH Radicals: Reaction Mechanism and Rate Constants from the Density Functional Theory. *The Journal of Physical Chemistry b*: 118(35): 10380-10389
- Markham, K.R.. 1982. Cara Mengidentifikasi Flavonoid, Diterjemahkan Oleh Kosasih Padmawinata, ITB Bandung
- Marzouk, M. M. 2016. Flavonoid Constituents And Cytotoxic Activity Of Erucaria Hispanica (L.) Druce Growing Wild In Egypt. *Arabian Journal Of Chemistry*, 9, 411-415

- Molyneux, P. 2004. The Use Of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin. J. Sci. Technol.* 26(2)
- Monteiro, S. S., Bessera, Y. A. S., Oliveira, H. M. L., & de Bittencourt Pasquali, M. A. 2020. *Production of Probiotic Passion Fruit (Passiflora edulis Sims f. Flavicarpa Deg.) Drink Using Lactobacillus reuteri and Microencapsulation via Spray Drying. Foods, Biotechnology*, 5(11).
- Mukhriani, 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. Makassar: Jurnal Kesehatan
- Mustarichie Resmi, Musfiroh, dan Jutti Levita. 2011. Metode Penelitian Tanaman Obat. Bandung: Widya Padjajaran
- Mutiasari I.R., 2012. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Jamur *Pleurotus ostreatus* Dengan Metode DPPH dan Identifikasi Golongan Senyawa Kimia Dari Fraksi Teraktif. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia. Depok.
- Phaniendra, A. Jestadi, D. B. & Periyasamy, L., 2015. Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. *Indian J Clin Biochem*, 30(1), pp. 11-26.
- Pitojo. Setijo, Purwantoyo. Eling, Puspita. Hesti. Nira., 2010. *Teknik Budidaya dan Pasca Panen Markisa*. Semarang. Aneka ilmu.
- Pratama, W.A & Zulkarnain, A. K. 2015. Uji SPF In Vitro dan Sifat Fisik Beberapa Produk Tabir Surya yang Beredar di Pasaran. *Majalah Farmasetika*. 11 (01). Hal 275-283.
- Qinghu, W., Jinmei, J., Nayintai, D., Narenchaoketu, H., Jingjing, H., Baiyinmuqier, B. 2016. Anti Inflammatory Effects, Nuclear Magnetic Resonance Identification And High Performance Liquid Chromatography Isolation Of The Total Flavonoids From Artemisia Frigida, *Journal Of Food and Drug Analysis*, 24, 385-391
- Rudnicki, M., de Oliveira, M. R., Veiga Pereira, T. da, Reginatto, F. H., Dal-Pizzol, F., & Fonseca Moreira, J. C. (2007). Antioxidant and antiglycation properties of Passiflora alata and Passiflora edulis extracts. *Food Chemistry*, 100(2).
- Saker Satyajit D, Lutfun Nahar. 2009. Kimia untuk Mahasiswa Farmasi Bahan Kimia Organik, Alam dan Umum. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Sayre, R. M. Agin, P.P. Levee, G.J., Marlowe, E. 1979. Comparison of In Vivo and In Vitro Testing of Sunscreening Formulas. *Photochem Photobiol.* Oxford. V, 29, p.559-566.
- Stanfield, J. W. 2003. *Sun Protectants : enhancing product functionality with sunscreens, in schueller, r. and Romanowski, p. multifunctional cosmetic*. New York : Marcel Dekker Inc.
- Sulastri, Erlindawati, Syahrial, Nazar, M. dan Andayani, T. 2013. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Ubi Jalar Ungu (*Ipomea batatas* L.) Hasil

Budidaya Daerah Saree Aceh Besar. *Jurnal Rekayasa Kimia dan Lingkungan*. 9 (3): 130. ISSN: 14112-5064

- Tahir, I. Jumina. Yuliastuti, I. 2002. Analisis Aktivitas perlindungan Sinar UV Secara In Vitro dan In Vivo dari Beberapa Senyawa Ester Sinamat Produk Reaksi Kondensasi Benzaldehida Tersubstitusi dan Alkil Asetat. Seminar Nasional Kimia XI: Yogyakarta, 2 November
- Tiang-yang., Wang., Qing Li., Kai-shun Bi. 2018. Bioactive Flavonoids In Medicinal Plants: Structure, Activity And Biological Fateasian. *Journal Of Pharmaceutical Sciences*,13,12-23
- Vanessa, M. Munhoza, R. L., Jose R.P., joao, A. C., Zequic, E., Leite, M., Gisely, C., Lopesa, J. P., Melloa. 2014. Extraction Of Flavonoids From Tagetes Patula: Process Optimization And Screening For Biological Activity . *Rev Bras Farmacogn*, 24, 576-583
- Walkinson, J. B. & Moore,R. J.(1982). Harry's Cosmeticology 7th Ed. New York: Chemical Publishing Company.
- Werdhasari A. 2014. Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*; 3(2):59-68.
- Winarsi W. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius.
- Wolf, R., et al. 2001. The Spectrophotometric Analysis and Modelling of Sunscreen. Washington: J. chem. Educ
- Ya Luo, et al. 2011. Antioxidant Properties and Involved Antioxidant Compounds of Strawberry Fruit at Different Maturity Stages.
- Zakky C, Wahyu U. 2017. Aktivitas Penangkap Radikal Ekstak Etanol 70% Biji Jengkol (*Archidendron jiringa*). Universitas Muhammadiyah Surakarta.