



UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA
FAKULTAS FARMASI DAN SAINS

Jl. Limau II, Kebayoran Baru, Jakarta 12130 Tel. (021) 7208177, 722886, Fax. (021) 7261226, 7256620
Islamic Centre, Jl. Delima II/IV, Klender, Jakarta Timur Tlp.: (021) 8611070, Fax. (021) 86603233
Website: www.ffi-uhamka.ac.id; E-mail: ffi@uhamka.ac.id

SURAT TUGAS
MELAKUKAN KEGIATAN PENELITIAN DAN PUBLIKASI
NO. 772/F.03.08/2021

Bismillahirrohmanirrohiim,

Yang bertanda tangan di bawah ini

N a m a	Dr. apt. Hadi Sunaryo, M.Si.
NIDN	0325067201
Pangkat /Jabatan Akademik	Penata Tk. I, IIIId/ Lektor Kepala
Jabatan	Dekan
Unit Kerja	Fakultas Farmasi dan Sains UHAMKA Jakarta

Memberikan tugas Penelitian dan Publikasi pada **tahun akademik 2021/2022** kepada:

N a m a	Sofia Fatmawati, M.Si., Apt
NID/NIDN	D.18.1309/ 0624038901
Pangkat /Jabatan Akademik	Penata Muda Tk. I/ III-B
Jabatan Fungsional	Asisten Ahli
Unit Kerja	Fakultas Farmasi dan Sains UHAMKA Jakarta

Untuk Melaksanakan Penelitian dan Publikasi sebagai berikut:

NO	JUDUL PENELITIAN DAN PUBLIKASI
1.	Total Phenolic, Total Flavonoid Content and in vitro Sun Protection Factor test of Arabica Coffee Leaves Extract (Coffea arabica L)

Demikian surat tugas ini diberikan kepada yang bersangkutan untuk dilaksanakan dengan penuh amanah dan tanggung jawab

Jakarta, 06 September

2021 Dekan,



Dr. apt. Hadi Sunaryo, M.Si.

Tembusan Yth:

1. Rektor UHAMKA Jakarta
2. Wakil Rektor I dan II UHAMKA Jakarta
3. Arsip

RESEARCH

Open Access

Total Phenolic, Total Flavonoid Content and in vitro Sun Protection Factor test of Arabica Coffee Leaves Extract (*Coffea arabica* L)

Sofia Fatmawati^{1*}, Landyyun Rahmawan Sjahid¹, Nadiyya Maulida Utami¹, and Kartini¹

ABSTRACT

Background: Arabica coffee leaf (*Coffea arabica* L.) is a well-known plant by the Indonesian people because it has many benefits apart from being a drink. Coffee leaves are known to have good antioxidant activity. The use of antioxidants in sunscreen preparations can prevent various diseases caused by UV radiation from UV rays' sunlight.

Aim: This study aims to determine the phenol content, the flavonoid content and the value of Sun Protection Factor (SPF) from differences between solvent extracts of arabica coffee leaves (*Coffea arabica* L.).

Method: The extraction method used was maceration with solvents: 70% ethanol, 96% ethanol and methanol. Determination of phenol content was carried out using the Folin ciocalteu method. Determination of flavonoid content was done by the AICI₃ method. SPF value is based on the Mansur equation from absorbance scanning using UV Spectrophotometry.

Result: The results obtained were the highest phenol and flavonoid content is in the methanolic extract of arabica coffee namely 62.371 ± 0.47 mgGAE/g and 8.6707 ± 0.04 mgQE/g. In the SPF test, the highest value was obtained from 70% ethanol extract of 5.0593 ± 1.28 at 100 ppm extract concentration with intermediate protection category.

Conclusion: Arabica coffee leaves have the potential as an active ingredient in herbal sunscreens

Keywords: Arabica Coffee, Leaves, Phenol, Flavonoid, Sunscreen.

BACKGROUND

The use of sunscreen has become a necessity of society in recent years due to solar radiation and other problems. Sunlight contains harmful UV rays UV-A (320-400 nm), UV-B (290-320 nm) and UV-C (200-290 nm) which cause side effects. UVA and UVB are mainly responsible for skin pathologies including skin pathologies such as sunburn, skin degeneration, rashes, premature aging, allergies and skin cancer. Free radicals or Reactive Oxygen Species (ROS) are induced by UV rays which are absorbed by human skin. ROS can trigger the inflammatory process in the skin¹. Therefore, human skin needs protection from UV rays to reduce the formation of ROS. ROS can be neutralized by antioxidant molecules. Increased awareness by the public of the damaging effects of solar radiation, thereby increasing the need for the use of sunscreen agents^{2,3}. Synthetic sunscreens are reported to have several harmful effects such as benzophenone sunscreens, camphor derivatives, and cinnamate derivatives⁴. This is one of the reasons that we have to propose some natural agents as a sunscreen which is more safe than synthetic sunscreen.

*Correspondence: sofia.fatmawati@uhamka.ac.id

¹Faculty Pharmacy and Science, Muhammadiyah Prof Dr Hamka University, Delima 2 Perumnas Klender, East Jakarta, Indonesia

Full list of author information is available at the end of the article

Coffee leaves contain many chemical compounds that are beneficial for health. Coffee leaves have antioxidant activity in the range 69.63% - 70.63%, high total phenol 10.01% - 11.53% and caffeine content which is quite low compared to beans⁵. Robusta coffee leaves reported contain saponins, flavonoids, and polyphenols⁶. Coffee leaves also have a good antioxidant capacity because of the phytochemical ingredients from the leaves^{7,8}.

Arabica coffee leaves also have a good antioxidant activity against DPPH compared to other species^{9,10}. The methanolic extract of older Arabica coffee leaves provides total phenolic content and antioxidant activity that is not much different from that of older Robusta coffee leaves¹¹. The young coffee leaves exposed to drying processes had the highest total phenolic content, total procyanidins, and DPPH radical scavenging activity¹².

High antioxidants may offer a high ability to prevent UV rays from penetrating the skin. The use of antioxidants in sunscreen preparations can increase photoprotective activity, the use of substances that are antioxidants can prevent various diseases caused by UV radiation¹³. Ethyl acetate extract and fraction Robusta coffee leaves are reported to have good potential sun protection factor¹⁴. According to phytochemical constituents and their activity, coffee leaf extract has potential as the new alternative ingredient for cosmetics or cosmeceutical products¹⁵. However, Arabica coffee leaves have not reported research on its potential as a sun protection factor. The aim of this study was to determine total phenolic content, total flavonoid content and in vitro Sun Protection Factor from Coffee leaves extract.

METHODS

Extract Preparation

Arabica coffee leaves that collected from Institut Pertanian Bogor (IPB) were extracted by maceration method using 3 different solvents, 70% ethanol, 96% ethanol and methanol. Total simplicia powder used 600 grams in each solvent was put into 3 containers each with 200 grams powder in a container and then extracted with the solvent used 70% ethanol, 96% ethanol and methanol in a ratio of 1:10 w/v¹⁶. The extract was filtered with filter paper and flannel cloth then the extract was concentrated using a rotary evaporator at a temperature of 40°C - 45°C.

Phytochemical Screening

The phytochemical compounds of coffee leaves extract, such as phenolic, flavonoid, tannin, alkaloid, terpene was qualitatively identified following standard procedures described in the Harbone (1987)¹⁷ and Indonesian Herb Pharmacopoeia¹⁶.

Total Phenolic Content

Gallic acid solution with concentrations of 9, 13, 17, 21, 25, 29, 33 ppm in distilled water, 1 ml of each solution was pipetted into a tube, then 5 ml of 10% Folin-Ciocalteu reagent was added (which had been dissolved in distilled water). The solution was to stand for 8 minutes and then add 4 mL of 7.5% Na₂CO₃ solution (Siddiqui et al. 2017). It was incubated for 161 minutes according to operating time at room temperature. All solutions were measured for absorbance at a maximum absorbance wavelength of 790 nm, then a calibration curve was made between gallic acid concentration and absorbance.

Determination of phenolic content in coffee leaves extract¹⁸. Each sample weighed 100 mg then dissolved in 10 ml of distilled water until a concentration of 10,000 ppm was obtained. From a concentration of 10,000 ppm in a pipette 0.5 ml in 10 ml of distilled water (500 ppm) then added 1 ml in a pipette 5 ml of Folin Ciocalteu was incubated for 8 minutes, then added 4 mL of 7.5% Na₂CO₃ and allowed to stand again at operating time 161 at room temperature. The absorbance of the extract solution was measured by UV-Vis spectrophotometer at a maximum absorbance wavelength of 790 nm. Perform 3 repetitions so that the phenol content obtained is obtained as mgGAE/g extract. The total phenolic content was calculated using the formula:

$$C = \frac{C1 \cdot V \cdot FP}{m}$$

C = Total phenolic content (mg GAE/gram extract)

C1 = Concentration determined from gallic acid calibration curve (mg/ml)

V = Extract volume (ml)

M = Mass of weighed extract (g)

Total Flavonoid Content

From 1000 ppm quercetin, several concentrations were made, namely 25, 37, 49, 61, 73, 85 and 97 ppm. A total of 0.5 ml of quercetin solution was made with several concentrations of pipette then added with 1.5 ml of methanol and added 0.1 ml of 10% AlCl₃ reagent 0.1 ml of sodium acetate (1M) and 2.8 ml of distilled water. Then the solution was shaken and left for an operating time of 60 minutes at room temperature. Measure the absorbance at a wavelength of 434 nm against the standard. Each concentration of 0.5 ml of the test solution was added with 1.5 ml of methanol and added 0.1 ml of 10% AlCl₃ reagent 0.1 ml of sodium acetate (1M) and 2.8 ml of distilled water, then allowed to react during the operating time at room temperature. Measure the absorption at the maximum wavelength against the standard¹⁹.

Sun Protection Factor Test

The SPF test was carried out using the spectrophotometric method to determine the SPF value of the extract. The test was carried out on the extract by weighing 100 mg of arabica coffee leaf extract transferred to a 100 ml volumetric flask and then marking the boundary with the solvent. Made with various concentrations of 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm with each solvent. Then read the absorption at a wavelength of 290 nm to 320 nm for every 5 nm increase using UV-Vis spectrophotometry¹⁴. The SPF (Sun Protection Factor) value is determined using the equation ²⁰:

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

Information:

CF = Correlation factor (10),

EE = radiation erythema efficiency with wavelength,

I = spectrum of light intensity,

Abs = absorbance of sunscreen sample.

The value of EE x I is a constant that has been determined according to (Sayre et.al., 1979)²¹ in Table 2.

Table 1. Value of EE x I ²¹

Wavelength (λ 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	1,000

RESULTS

The results obtained in the form of thick extract of arabica coffee leaves. Yield calculations were carried out by calculating the weight of the dry extract obtained against the weight of dry powder before extraction and then multiplied by 100% ¹⁶ (Table 2).

Table 2. Present yield of Arabica Coffee Leaves Extract

Solvents	Simplisia Powder Weight (gram)	Extract weight (gram)	Yields (%)
Etanol 70%	600.0095 g	91.8634 g	15.3103%
Metanol	600.0187 g	92.7050 g	15.4504%
Etanol 96%	600.0368 g	52.0928 g	10.0148%

The characteristics of the extracts carried out included organoleptic tests (shape, smell, taste and color). The characteristics of the viscous extract of 70% ethanol, 96% ethanol extract and methanol extract were carried out to test the characteristics and identification of the viscous extract. Based on the organoleptic test results, 70% ethanol viscous extract, 96% ethanol extract and Arabica coffee leaf methanol extract had a green-black color, weak characteristic odor and bitter taste. The organoleptic parameters of the extract aim to provide an initial introduction to simplicia and extracts using the five senses by describing the shape, color, smell and taste 16 (Table 3).

Table 3. Organoleptic Test Extract

Material	Smell	Colour	Shape	Taste
Simplisa powder	Aromatic	Yellowish Brown	Powder	No taste
70% Ethanolic Extract	Aromatic	Brownish Black	Thick extract	Bitter taste
96% Ethanolic Extract	Aromatic	Brownish Black	Thick extract	Bitter taste
Methanolic extract	Aromatic	Brownish Black	Thick extract	Bitter taste

Phytochemical Screening Test was conducted to qualitatively determine the metabolite compounds present in the extract. The tests carried out included: phenol, alkaloids, flavonoids, tannins, saponins, terpenoids, steroid tests. The results of Arabica coffee extract screening on 70% ethanol extract, 96% ethanol and Arabica coffee leaf methanol extract, as shown in table 4. From the results obtained, it was concluded that arabica coffee leaf extract contains phenolic compounds, flavonoids, alkaloids, tannins, and saponins.

Table 4. Phytochemical Screening of Extract

No	Identificat ion	Reagents	Ethanol 70%	Ethanol 96%	metha nol
1	Phenol	FeCl ₃ 10%	(+)	(+)	(+)
2	Alkaloid	Mayer	(+)	(+)	(+)
		Dragendorff	(+)	(+)	(+)
		Bouchardat	(+)	(+)	(+)
		Wagner	(+)	(+)	(+)
3	Flavonoid	Mg + HCl	(+)	(+)	(+)
4	Tannin	Gelatin10%	(+)	(+)	(+)
5	Saponin	Aquadest HCl	(+)	(+)	(+)
6	Steroid	Aether+Acetic Acid Glacial+H ₂ SO ₄ (P)	(-)	(-)	(-)
7	Triterpeno id	CHCl ₃ +H ₂ SO ₄ (P)	(+)	(+)	(+)

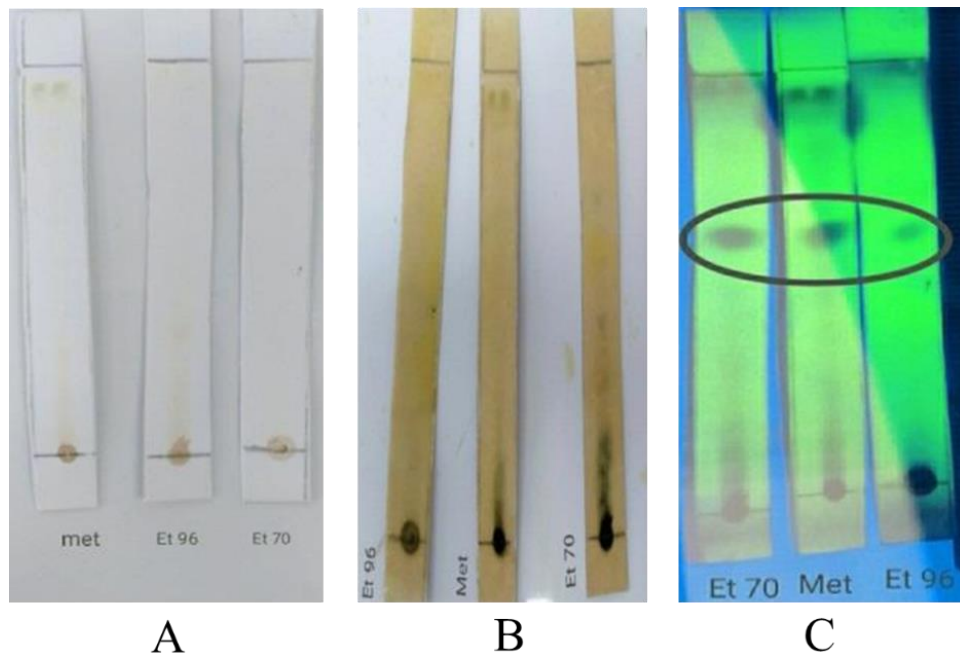


Figure 1. Chromatogram of phenolic compound in coffee leaves extract [A] Silica Plate (left to right : methanolic, 96% ethanolic, 70% ethanolic extract) [B] silica plate after FeCl₃ sprayed (left to right : 96% ethanolic, methanolic, 70% ethanolic extract) (C) silica plate under UV 254 nm (left to right : 70% ethanolic, methanolic, 96% ethanolic extract)

In the identification test of phenolic compounds using TLC (Thin Layer Chromatography) was carried out to identify qualitatively to ensure that the extract contained phenolic compounds. Silica Gel GF254 was used as the stationary phase and chloroform: ethyl acetate: formic acid (5:4:1) was used as the mobile phase²². TLC results showed blue-black spots at UV light 254 nm but at UV 366 nm no spots were found. After that, the plate was sprayed using FeCl₃ which was used to detect phenol group compounds.

Gallic acid is used as the standard solution for this test. The maximum wavelength obtained is 790 nm with an absorbance of 0.578. The maximum wavelength will be used to measure the absorbance of arabica coffee leaf extract. After getting maximum wavelength, the operating time is carried out to determine the perfect and stable reaction time. The results obtained are at a time of 161 minutes. From the standard curve equation, the linear regression equation is obtained, namely $y = 0.0199x + 0.0739$ with a coefficient of r of 0.9999 (Table 5). The linear value shows the correlation between the concentration and the resulting absorbance. The value of r which is getting closer to the value of one proves that the regression equation is linear and a small standard deviation indicates high accuracy¹¹.

Table 5. Result of Total Phenolic Content and Total Flavonoid Content from Arabica Coffee Leaves Extract

Sample	TPC (mgGAE/gram)	Average TPC	TFC (mgQE/gram)	Average TFC
70% ethanolic extract	53.2637	54.7580 ± 1,72	8.568	8.5340 ± 0.04
	55.3065		8.549	
	55.7059		8.485	
96% ethanolic extract	21.8875	22.6907 ± 0.46	6.150	6.1453 ± 0.04
	22.7034		6.095	
	22.6907		6.191	
Methanolic extract	62.0367	62.371 ± 0.47	8.667	8.6707 ± 0.04
	62.157		8.716	
	62.9193		8.629	

Determination of the SPF value for the extract was carried out by measuring the absorbance in the wavelength range of 290 – 320 nm, with an interval of 5. The wavelength of 290 – 320 nm is the wavelength of UV-B light. nm. The absorbance value decreases and is lowest at a wavelength of 320 nm. Then the absorbance results obtained are calculated by the Mansur equation in equation 2. The SPF value for Arabica coffee leaf extract 70% ethanol extract, 96% ethanol extract and methanol extract can be seen in table 6.

Tabel 6. SPF Value of Coffee Leaves Extract

Sample	Concentration of Solution Test	SPF Value	Protection type
70% Ethanolic Extract	50 ppm	4,0571 ± 0,01	Intermediate
	100 ppm	5,0286 ± 1,24	Intermediate
	150 ppm	5,0593 ± 1,28	Intermediate
96% Ethanolic Extract	50 ppm	2,3763 ± 0,70	Minimum
	100 ppm	2,4436 ± 0,73	Minimum
	150 ppm	2,6219 ± 0,80	Minimum
Methanolic Extract	50 ppm	3,3106 ± 0,61	Minimum
	100 ppm	3,1802 ± 0,01	Minimum
	150 ppm	3,2712 ± 0,47	Minimum

DISCUSSION

Based on the phytochemical screening results of arabica coffee leaves extract in table 7, it was found that the phenol test on all extracts was positive with a color change from dark green to black after reaction with FeCl₃ reagent. The phenol compounds will reduce Fe³⁺ to Fe²⁺ so as a blackish green color is produced. In the identification of flavonoids, Arabica coffee leaves extract was positive for flavonoid compounds with a typical change in color from yellow to orange. This is due to the reduction reaction in Mg after the addition of HCl, the reaction gives a reddish yellow color²³.

Alkaloids were tested using 4 reagents, namely Mayer, Dragendorff, Bouchardat and Wagner. The

Mayer test showed a positive result of 70% ethanol and the methanol extract was characterized by the formation of a yellowish white precipitate. In Dragendorff's reagent the positive extract contains alkaloid compounds which are indicated by the presence of orange precipitation, because the nitrogen compounds in the alkaloids form covalent bonds with metal ions K^+ from potassium tetraiodobismuthate to form potassium-alkaloid complexes. In the test results with Bouchardat reagent produced a brown precipitate. The reaction occurs because of the bond between metal ions K^+ from potassium iodide (KI) with nitrogen compounds in the alkaloids to form a precipitate complex. In the alkaloid test with Wagner's reagent, positive results were obtained on extracts containing alkaloid compounds characterized by a brownish white precipitate. The formation of these deposits is due to nitrogen compounds in the alkaloids reacting with metal ions K^+ from potassium tetraiodomercurate (II) to form a potassium-alkaloid complex²⁴.

The tannin test showed a yellowish white precipitate. This indicates that the extract contains tannin compounds, because the tannin compounds are able to precipitate proteins. Arabica coffee leaf extract gave positive results on steroid testing. It is characterized by a change in color to reddish brown. The color change was due to the compound's ability to form concentrated H_2SO_4 color in acetic anhydride solvent²³ and showed negative results in the triterpenoid test which formed a blackish brown color. The presence of saponins in the extract was indicated by the formation of foam after shaking the extract dissolved in hot water. The foam produced was as high as 1.4 cm in each extract, the foam in the test occurred because the saponins had polar and non-polar groups that formed micelles. The micelles are formed causing the polar groups to face out and the non-polar groups to face inwards and this is what looks like foam¹⁷.

The R_f values obtained from TLC plates for each Arabica coffee leaf extract sequentially at 70% ethanol extract, 96% ethanol extract and methanol were; 0.7589 ; 0.7419 ; 0.7741. The difference in the mobile phase will cause a difference in the propagation distance of the sample, so it will affect the R_f value. This difference occurs because it is based on the nature of the polarity of the compound²⁵.

Based on the research, it was found that the phenolic content of Arabica coffee leaf extract obtained the highest phenolic content in the methanol extract, namely 62.371 ± 0.47 mgGAE/g then 70% ethanol extract 54.7580 ± 1.72 mgGAE/g and the lowest phenol content in the 96% ethanol extract 22.6907 ± 0.46 mgGAE/g . The flavonoid content of Arabica coffee leaf extract obtained the highest in the methanol extract, namely $8,6707 \pm 0.04$ mgQE/g then 70% ethanol extract $8,5340 \pm 0,04$ mgQE/g and the lowest flavonoid content in the 96% ethanol extract $6,1453 \pm 0.04$ mgQE/g . It is appropriate that polar solvents are able to dissolve phenol better²⁶. Based on the dielectric constant, organic solvents can be divided into two, namely polar and non-polar solvents. The dielectric constant is expressed as the repulsive force between two electrically charged particles in a molecule. The higher the dielectric constant, the more polar the solvent. Methanol has a higher polarity level than 70% ethanol so that the extract with methanol solvent can attract phenolic compounds better than 70% ethanol extract and 96% ethanol. The phenolic and flavonoid content will increase in the extract as the polarity of the solvent increases²⁷. Methanol is an effective solvent for extracting antioxidant compounds, a universal solvent so that it can attract most of the polar and nonpolar compounds in the material²⁸ can attract phenolic compounds, saponins, tannins and terpenoids in plants²⁹. Phenol compounds have the potential as antioxidants that can act well as sunscreens. This is due to the presence of a hydroxyl group that functions as a donor of hydrogen atoms when reacting with radical compounds through an electron transfer mechanism so that the oxidation process is inhibited¹³.

The results of the sunscreen activity of 70% ethanol extract had an SPF value higher than a concentration of 50 ppm to 150 ppm with intermediate protection or with an SPF value of 4-6 indicating that the extract could withstand or protect the skin against sunlight four times longer without sunburn. Then followed by methanol extract and 96% ethanol extract from a concentration of 50 ppm to 150 ppm with minimal protection with an SPF value of 2-4 indicating that the extract can withstand or protect the skin against sunlight twice as

long without burning skin.

The SPF value showed that with increasing concentration. Its value also increases due to an increase of phenol and flavonoid compounds in the test solution that can absorb ultraviolet radiation. The test results also showed that with different solvents, the given SPF values remained different even though there was an increase in the concentration of the extract with other solvents. This can indicate the different yield and type of a phytochemical compound according to the coffee leaves extraction solvent.

The mechanism of action of sunscreen protection can be explained as compound molecules that absorb energy from UV rays will be excited to a higher energy level, when returning to a lower energy level, will release energy. Meanwhile, UV rays that are absorbed by molecules that have the potential as sunscreens will have lower energy, so they can reduce the negative impact of UV exposure. With this mechanism, phenolic compounds and compounds that act as sunscreens have the potential for photoprotection ¹⁴.

From these results, it can be correlated with the measured phenol content of each extract with sunscreen activity. The presence of sunscreen protection activity in Arabica coffee leaf extract is due to plant chemical compounds that have the potential to absorb UV, one of which is phenol. The highest phenolic content were found in methanol extract, 70% ethanol extract and 96% ethanol extract, respectively. Meanwhile, in the sunscreen activity test, the highest SPF values were obtained from 70% ethanol extract, methanol and 96% ethanol, respectively. These results can occur because compounds that have the potential as sunscreens are not only phenolic but also many other compounds such as flavonoids, tannins, vitamins ^{30,31}.

Although the chemical screening of all positive extracts contained phenolic compounds, flavonoids, tannins, it is possible that the number and types of secondary metabolites of each extract were different so that the results obtained were also different. In addition, the yield data obtained has to do with secondary metabolites from a sample so that if the amount of yield increases, the number of compounds contained in the sample also increases. Compounds with aromatic rings and chromophore groups also have an effect on UV protection ³².

CONCLUSION

From the research conducted, it can be concluded that the difference in solvent can affect the phenol and flavonoid content based on the level of polarity of the solvent. The highest yield of phenol and flavonoid content in arabica coffee leaves extract was obtained from methanol, 70% ethanol and 96% ethanol extract. Meanwhile, in the SPF test, the highest SPF values were obtained respectively from 70% ethanol extract with moderate protection category, methanol and 96% ethanol with minimum protection category.

ACKNOWLEDGEMENT

Lemlitbang Muhammadiyah Prof Dr Hamka University for funding this research.

CONFLICT OF INTEREST

We declare that we have no conflict of interest regarding the publication of this article.

AUTHORS' CONTRIBUTION

SF, analyzed and interpreted the TPC, TFC and SPF data of the extract leaves. LRS and FN monitored the extract preparation, NP performed the TPC and SPF examination of the extract, and K performed the TFC examination of the extract, All authors read and approved the final manuscript.

FUNDING

Lemlitbang Muhammadiyah Prof Dr Hamka University

AUTHOR DETAILS

¹Faculty Pharmacy and Science, Muhammadiyah Prof Dr Hamka University, Delima 2 Perumnas Klender, East Jakarta, Indonesia

REFERENCES

1. Pillai S, Oresajo C, Hayward J. Ultraviolet radiation and skin aging: Roles of reactive oxygen species, inflammation and protease activation, and strategies for prevention of inflammation-induced matrix degradation - A review. *Int J Cosmet Sci.* 2005;27(1):17-34. doi:10.1111/j.1467-2494.2004.00241.x
2. Afaq F, Mukhtar H. Photochemoprevention by botanical antioxidants. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol.* 2002;15(5):297-306. doi:10.1159/000064533
3. Clydesdale GJ, Dandie GW, Muller HK. Ultraviolet light induced injury: Immunological and inflammatory effects. *Immunol Cell Biol.* 2001;79(6):547-568. doi:10.1046/j.1440-1711.2001.01047.x
4. Paul SP. Ensuring the Safety of Sunscreens, and Their Efficacy in Preventing Skin Cancers: Challenges and Controversies for Clinicians, Formulators, and Regulators. *Front Med.* 2019;6(September):1-7. doi:10.3389/fmed.2019.00195
5. Khotimah K. Karakteristik Kimia Kopi Kawa Dari Berbagai Umur Helai Daun Kopi Yang Diproses Dengan Metode Berbeda. *J Teknol Pertan.* 2014;9(1):40-48.
6. Patay ÉB, Bencsik T, Papp N. Phytochemical overview and medicinal importance of Coffea species from the past until now. *Asian Pac J Trop Med.* 2016;9(12):1127-1135. doi:10.1016/j.apjtm.2016.11.008
7. Rahmah Nasution M, Br Manullang M. Aktivitas Antioksidan Seduhan Daun Kopi Kawa Kering (Coffea arabica L) dengan Metode DPPH. *J Insa Farm Indones.* 2020;3(1):114-123. doi:10.36387/jifi.v3i1.467
8. Acidri R, Sawai Y, Sugimoto Y, et al. Phytochemical profile and antioxidant capacity of coffee plant organs compared to green and roasted coffee beans. *Antioxidants.* 2020;9(2):1-18. doi:10.3390/antiox9020093
9. Ristiana D. Aktivitas Antioksidan Dan Kadar Fenol Berbagai Ekstrak Daun Kopi (Coffea Sp.): Potensi Aplikasi Bahan Alami Untuk Fortifikasi Pangan. *J Apl Teknol Pangan.* 2017;6(2):89-92. doi:10.17728/jatp.205
10. Hasanah M, Hilma H, Puguh S. antioxidant Activity of Extract and Fractions from Coffee arabica L Leaves by DPPH Radical Scavenging Method. *Sci J PPI-UKM Sci Eng.* 2016;3(4):162-165. doi:10.21752/sjppi-ukm/se/a14092016
11. Kristiningrum N, Cahyanti YN, Wulandari L, Farmasi F, Jember U. Determination of Total Phenolic Content and Antioxidant Activity in Methanolic Extract of Robusta and Arabica Coffee Leaves. In: *ICMHS 2016.* ; 2016:96-99.
12. Ngamsuk S, Huang TC, Hsu JL. Determination of phenolic compounds, procyanidins, and antioxidant activity in processed coffea Arabica L. leaves. *Foods.* 2019;8(9):1-13. doi:10.3390/foods8090389
13. Ebrahimzadeh MA, Enayatifard R, Khalili M, Ghaffarloo M, Saedi M, Charati JY. Correlation between sun protection factor and antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some medicinal plants. *Iran J Pharm Res.* 2014;13(3):1041-1048. doi:10.22037/ijpr.2014.1554
14. Yuliawati KM, Sadiyah ER, Solehati R, Elgiawan A. Sunscreen Activity Testing Of Robusta Coffee (Coffea cenephora ex Froehner) Leave Extract and Fractions. *IJPT Indones J Pharm Sci Technol.* 2019;1(1):24-29.
15. Kiattisin K, Nitthikan N, Poomanee W, Leelapornpisid P, Viernstein H, Mueller M. Anti-inflammatory, antioxidant activities and safety of coffea arabica leaf extract for alternative cosmetic ingredient. *Chiang Mai J Sci.* 2019;46(2):284-294.
16. Indonesian Ministry of Health. *Farmakope Herbal Indonesia.*; 2017.
17. Harbone J. *Metode Fitokimia.* Second. ITB Press; 1987.
18. Siddiqui N, Rauf A, Latif A, Mahmood Z. Spectrophotometric determination of the total phenolic content,

- spectral and fluorescence study of the herbal Unani drug Gul-e-Zoofa (*Nepeta bracteata* Benth). *J Taibah Univ Med Sci.* 2017;12(4):360-363. doi:10.1016/j.jtumed.2016.11.006
19. Hikmawanti NPE, Fatmawati S, Arifin Z, . V. Pengaruh Variasi Metode Ekstraksi Terhadap Perolehan Senyawa Antioksidan Pada Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr). *J Farm Udayana.* 2021;10(1):1. doi:10.24843/jfu.2021.v10.i01.p01
 20. Mansur JDS BM. Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. *An Bras Dermatol.* 1986;61:121-124.
 21. Sayre RM, Agin PP, LeVee GJ, Marlowe E. A Comparison of In Vivo and In Vitro Testing of Sunscreening Formulas. *Photochem Photobiol.* 1979;29(3):559-566. doi:https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.1979.tb07090.x
 22. Ihsan P, Rahmani PA, Shalas AF. Validasi Metode KLT-Densitometri untuk Analisis Kuersetin dalam Ekstrak dan Produk Jamu yang Mengandung Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.). *Pharm J Indones.* 2019;5(1):45-51.
 23. Fajriaty I, I H H, Setyaningrum R. Skrining Fitokimia Lapis Titpis Dari Ekstrak Etanol Daun Bintangur (*Calophyllum soulattri* Burm . F .). *J Pendidik Inform dan Sains.* 2018;7(1):54-67.
 24. Parbuntari H, Prestica Y, Gunawan R, Nurman MN, Adella F. Preliminary Phytochemical Screening (Qualitative Analysis) of Cacao Leaves (*Theobroma cacao* L.). *EKSAKTA Berk Ilm Bid MIPA.* 2018;19(2):40-45. doi:10.24036/eksakta/vol19-iss2/142
 25. Kagan IA, Flythe MD. Thin-layer chromatographic (TLC) separations and bioassays of plant extracts to identify antimicrobial compounds. *J Vis Exp.* 2014;(85):51411. doi:10.3791/51411
 26. Moein S, Moein MR. Relationship between antioxidant properties and phenolics in *Zhumeria majdae*. *J Med Plants Res.* 2010;4(7):517-521. doi:10.5897/JMPR10.292
 27. Ganesan P, Kumar CS, Bhaskar N. Antioxidant properties of methanol extract and its solvent fractions obtained from selected Indian red seaweeds. *Bioresour Technol.* 2008;99(8):2717-2723. doi:10.1016/j.biortech.2007.07.005
 28. Salamah N, Widyasari E. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Kelengkeng (*Euphoria longan* (L) Steud.) dengan Metode Penangkapan Radikal 2,2'-difenil-1-pikrilhidrazil. *Pharmaciana.* 2015;5(1):25-34. doi:10.12928/pharmaciana.v5i1.2283
 29. Astarina NWG, Astuti KW, Warditiani NK. Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Rimpang Bangle (. *J Farm Udayana.* 2012;344(4):1-7.
 30. Donglikar MM, Deore SL. Development and evaluation of herbal sunscreen. *Pharmacogn J.* 2017;9(1):83-97. doi:10.5530/pj.2017.1.15
 31. Malsawmtluangi C, Nath DK, Jamatia I, Lianhingthangi EZ, Pachuau L. Determination of Sun Protection Factor (SPF) number of some aqueous herbal extracts. *J Appl Pharm Sci.* 2013;3(9):150-151. doi:10.7324/JAPS.2013.3925
 32. Geoffrey K, Mwangi AN, Maru SM. Sunscreen products: Rationale for use, formulation development and regulatory considerations. *Saudi Pharm J.* 2019;27(7):1009-1018. doi:10.1016/j.jsps.2019.08.003



UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA
FAKULTAS FARMASI DAN SAINS

Jl. Limau II, Kebayoran Baru, Jakarta 12130 Tel. (021) 7208177, 722886, Fax. (021) 7261226, 7256620
Islamic Centre, Jl. Delima II/IV, Klender, Jakarta Timur Tlp.: (021) 8611070, Fax. (021) 86603233
Website: www.ffi-uhamka.ac.id; E-mail: ffi@uhamka.ac.id

SURAT TUGAS
MELAKUKAN KEGIATAN PENELITIAN DAN PUBLIKASI
NO. 770/F.03.08/2021

Bismillahirrohmanirrohiim,

Yang bertanda tangan di bawah ini

N a m a	Dr. apt. Hadi Sunaryo, M.Si.
NIDN	0325067201
Pangkat /Jabatan Akademik	Penata Tk. I, IIIId/ Lektor Kepala
Jabatan	Dekan
Unit Kerja	Fakultas Farmasi dan Sains UHAMKA Jakarta

Memberikan tugas Penelitian dan Publikasi pada **tahun akademik 2021/2022** kepada:

N a m a	Sofia Fatmawati, M.Si., Apt
NID/NIDN	D.18.1309/ 0624038901
Pangkat /Jabatan Akademik	Penata Muda Tk. I/ III-B
Jabatan Fungsional	Asisten Ahli
Unit Kerja	Fakultas Farmasi dan Sains UHAMKA Jakarta

Untuk Melaksanakan Penelitian dan Publikasi sebagai berikut:

NO	JUDUL PENELITIAN DAN PUBLIKASI
1.	FORMULASI DAN UJI FAKTOR PELINDUNG SURYA KRIM EKSTRAK ETANOL DAUN KOPI ARABIKA (<i>Coffea arabica</i> L.)

Demikian surat tugas ini diberikan kepada yang bersangkutan untuk dilaksanakan dengan penuh amanah dan tanggung jawab

Jakarta, 06 September

2021 Dekan,



Dr. apt. Hadi Sunaryo, M.Si.

Tembusan Yth:

1. Rektor UHAMKA Jakarta
2. Wakil Rektor I dan II UHAMKA Jakarta
3. Arsip

ISSN (cetak) : 1412-7946
ISSN (online) : 2503-5223

Media Farmasi

Jurnal Ilmu Farmasi

(Journal Of Pharmaceutical Science "Media Farmasi")

Vol. 18 No. 2 September 2021



Media Farmasi
Jurnal Ilmu Farmasi

Vol. 18

No. 2

Hlm: 70-156

**Yogyakarta
September 2021**

**ISSN Cetak
1412-7946**

**ISSN Online
2503-5223**

Media Farmasi

Jurnal Ilmu Farmasi

(Journal Of Pharmaceutical Science “Media Farmasi”)

Terbit 6 bulan sekali (Maret dan September)
Diterbitkan oleh Fakultas Farmasi UAD sejak September 2002

Volume 18, Nomor 2, September 2021

Ketua Penyunting

apt. Lalu Muhammad Irham, M.Farm.,Ph.D, Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta

Dewan Penyunting

1. apt. Andriana Sari, M.Sc, Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta, Indonesia
2. Bayu Tri Murti, BPharm, MAppSci, Department of Chemistry, Taipei Medical University, Taiwan
3. Dr. apt Iis Wahyuningsih, M.Si, Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta, Indonesia
4. Dian Prasasti, M.Sc, Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta, Indonesia
5. apt. Widyasari Putranti, M.Sc, Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta, Indonesia

**Terbit Pertama :
September 2002**

**Periode Terbit :
Maret dan September**

Alamat Redaksi :
Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan
Jl. Prof. Dr. Soepomo SH, Warungboto, Umbulharjo, Yogyakarta
Telp. 379418, Fax. (0274) 564604



CONTENTS

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN SPF (Sun Protection Factor) LENDIR BEKICOT (Achatina fulica) MENGGUNAKAN SPEKTROFOTOMETER UV-VIS <i>In Suhesti, Riyan Setiyanto, Nabila Nurhaliza Islami, Cinti Anggia</i>	70-86
FORMULASI DAN UJI FAKTOR PELINDUNG SURYA KRIM EKSTRAK ETANOL DAUN KOPI ARABIKA (Coffea arabica L.) <i>Fitria Nugrahaeni, Sofia Fatmawati, Fith Khaira Nursal, Vina Yulia Hidayat</i>	87-101
AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN BIOAUTOGRAFI EKSTRAK DAUN RAMBUSA (Passiflora foetida L) TERHADAP Pseudomonas aeruginosa-Klebsiella pneumoniae <i>Ghani Nurfiana Fadma Sari, Ismi Puspitasari</i>	102-114
EFEK ANTIINFLAMASI NANOPARTIKEL KITOSAN-EKSTRAK KERING TERIPANG (Stichopus variegatus) SECARA IN VITRO DAN IN VIVO <i>Ema Hermawati, Syamsudin Abdillah, Deni Rahmat</i>	115-132
IDENTIFIKASI GENETIK LACTOBACILLUS DALAM FERMENTASI AIR CUCIAN BERAS DENGAN PCR (POLYMERASE CHAIN REACTION) <i>Rehmadanta Sitepu, Sophia Yusnita Wahyu Timur, Rollando Rollando</i>	133-146
ANALISIS HUBUNGAN LAMA PENGGUNAAN DAN USIA AKSEPTOR SUNTIK DMPA TERHADAP RISIKO OBESITAS DI PUSKESMAS PERUMNAS II PONTIANAK <i>Nurmainah Nurmainah, Syaazaratul Qamelia Innas</i>	147-156

FORMULASI DAN UJI FAKTOR PELINDUNG SURYA KRIM EKSTRAK ETANOL DAUN KOPI ARABIKA (*Coffea arabica* L.)

FORMULATION AND TEST OF SUN PROTECTION FACTOR BY ETHANOL CREAM EXTRACT OF ARABICA COFFEE LEAVES (*Coffea arabica* L.)

Fitria Nugrahaeni, Sofia Fatmawati, Fith Khaira Nursal*, Vina Yulia Hidayat
Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Prof.DR.HAMKA, Jakarta, Indonesia

*Penulis Korespondensi, e-mail : fithkhaira@uhamka.ac.id

ABSTRAK

Salah satu perlindungan kimiawi yang mengurangi efek paparan sinar matahari dengan mengaplikasikan kosmetik tabir surya. Daun kopi mengandung asam fenolik yaitu senyawa antioksidan yang dapat mengeliminasi radikal bebas, berpotensi sebagai sediaan krim tabir surya. Penelitian ini bertujuan memformulasikan ekstrak etanol daun kopi arabika dalam bentuk krim yang memenuhi standar kosmetika tabir surya dan menentukan nilai faktor pelindung surya (FPS) sediaan tersebut. Serbuk daun kopi arabika dimaserasi dengan pelarut etanol. Sediaan krim m/a dibuat 4 formula dengan memvariasikan jumlah ekstrak yang digunakan 0%; 1,5%; 2% dan 2,5% (F1, F2, F3 & F4). Evaluasi yang dilakukan meliputi pengujian karakteristik fisik krim secara kualitatif dan penentuan nilai faktor pelindung surya. Hasil penelitian evaluasi karakteristik fisik krim menunjukkan semua formula memenuhi persyaratan. Nilai faktor pelindung surya pada konsentrasi 2,5% yaitu F4 didapat hasil tertinggi dengan nilai FPS 5,54 bersifat proteksi sedang. Analisis statistik menunjukkan nilai signifikansi <0,05 sehingga menandakan adanya perbedaan bermakna antar formula terhadap nilai faktor pelindung surya krim.

Kata kunci: Krim, ekstrak etanol daun kopi arabika, faktor pelindung surya

ABSTRACT

One of the chemical protection can reduce the effects of sun exposure by using sunscreen cosmetics. Coffee leaves contain phenolic acids, which are antioxidant compounds that can function to remove free radicals in the body, potentially in sunscreen cream preparations. This study aimed to formulate ethanol extract of arabica coffee leaves in a cream dosage form that meets pharmaceutical standards and determines the value of the sun protection factor (SPF) of these preparations. Arabica coffee leaves powder was extracted by maceration using ethanol solvent. Type o/a cream preparations were made using the melting method of 4 formulas by varying the amount of extract used 0%; 1.5%; 2% and 2.5% (F1, F2, F3 & F4). The evaluation includes testing the physical characteristics of the cream qualitatively and determining the value of sun protection factor. The results of the the physical characteristics of the cream showed that all

formulas met the requirements. The sun protection factor at a concentration of 2.5%, namely F4, obtained the highest results with an SPF value of 5.54 which was moderate protection. The statistical analysis results show the sig value <0.05, indicating that there was any evidence of differences between the formulas on the value of the sun cream barrier factor.

Keywords : *Cream, ethanol extract of arabica coffee leaves, sun protection factor.*

PENDAHULUAN

Sinar matahari mengandung vitamin D yang sangat bermanfaat untuk tulang. Paparan sinar matahari dapat membuat epidermis tidak dapat untuk melawan efek yang merugikan seperti kanker kulit (Mutalik et al., 2015). Perlindungan kimiawi yang dapat diambil untuk mengurangi efek merugikan tersebut dapat menggunakan kosmetik tabir surya (Manikrao and Deore, 2016).

Penggunaan tabir surya berbahan dasar kimia sangatlah berbahaya (Almeida et al., 2019) terutama apabila dipakai dalam jangka waktu lama dapat menimbulkan beberapa kerugian salah satunya menyebabkan rasa iritasi, rasa menyengat, terbakar dan menyebabkan alergi kontak (Smaoui et al., 2017). Sediaan tabir surya berbahan dasar alam dianggap lebih aman untuk diaplikasikan ke kulit dan memiliki dampak negatif yang kecil daripada menggunakan bahan kimia (Maske et al., 2013). Penelitian sebelumnya (Puspitasari, et al., 2018) formulasi krim tabir surya ekstrak etanol daun kersen dengan konsentrasi ekstrak 3% didapatkan nilai FPS 19,08 dan pada penelitian (Geraldine and Hastuti, 2018) formulasi krim tabir surya ekstrak buah parijoto 0,5% didapatkan nilai FPS 6,66. Selain bahan tersebut bahan alam yang berpotensi untuk dijadikan sediaan krim tabir surya adalah daun kopi.

Daun kopi salah satu bagian yang biasanya dibuang dan belum dimanfaatkan sebagai produk kosmetik (Puspitasari et al., 2017). Salah satu daun kopi yang berefek antioksidan adalah daun kopi arabika (*Coffea arabica* L.). Daun kopi arabika memiliki kandungan senyawa saponin, kafein, flavonoid dan polifenol (Rodríguez-Gómez et al., 2018). Asam fenolik dalam daun kopi dapat berfungsi mengeliminasi radikal bebas yang ada di tubuh (Setiawan et al., 2015). Menurut (Khotimah, 2014) daun kopi memiliki aktivitas antioksidan sebesar 69,63%-70,63%, kandungan kafein yang rendah dibanding kopi dari biji yaitu 0,12% dan total fenol tinggi yaitu 10,01%-11,53%. Penelitian terkait

daun kopi arabika belum ada publikasi dan sangat terbatas, sehingga perlu dilakukan penelitian salah satunya sebagai sediaan kosmetik (Puspitasari et al., 2017). Menurut penelitian (Yuliawati et al., 2019) tentang aktivitas penentuan nilai FPS ekstrak daun kopi robusta didapatkan konsentrasi tertinggi pada 150 ppm dengan nilai FPS 6,03. Bentuk sediaan kosmetik yang digunakan di pasaran adalah sediaan krim.

Sediaan krim lebih efisien karena stabilitasnya yang baik, kemampuan penyebaran, oklusivitas, daya penetrasi dan efektivitas biaya (Smaoui et al., 2017). Waktu kontak yang lama dan solusinya obat aktif hidrofobik, kemampuan dalam fase minyak membuat bentuk sediaan krim selalu menjadi pilihan (Donglikar and Deore, 2016).

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Serbuk daun kopi arabika didapatkan dari Pusat Studi Biofarmaka tropika LPPM IPB; etanol 70%, etanol pro analisa, cetyl alcohol, asam stearat, gliserin, methyl paraben, triethanolamin, aqua destilata.

Alat yang digunakan antara lain pH meter (Hanna Instrument), spektrofotometer UV-VIS (Shimadzu), viscometer Brookfield (RVDVE type), dan sentrifus (Gemmyco), Ultrasonik (Branson).

Jalannya Penelitian

Ekstraksi

Serbuk daun kopi arabika dimaserasi dengan etanol 70% dalam wadah kaca gelap, selama 5 hari (Kemenkes RI, 2017). Ekstrak disaring dan dipekatkan dalam rotary evaporator pada suhu dibawah 50°C, dan dikemas dalam botol gelap.

Evaluasi Ekstrak

Pemeriksaan organoleptik ekstrak daun kopi arabika dilakukan secara visual pada suhu ruang. Kandungan kimia yang diperiksa meliputi alkaloid, flavonoid, saponin, fenolik, tanin, steroid dan triterpenoid dengan uji kualitatif (Rodríguez-Gómez et al., 2018). Identifikasi senyawa fenolik menggunakan KLT digunakan fase gerak kloroform:etil asetat: asam format (5 : 4 : 1) (Kemenkes RI, 2017). Plat yang telah dielusi

kemudian didiamkan pada suhu ruang, kemudian semprot dengan FeCl_3 jika sudah kering plat dilihat bercaknya di bawah sinar UV 254 nm (Kemenkes RI, 2017). Kemudian ekstrak dilakukan uji susut pengeringan dengan menggunakan alat *moisture balance* dan dilakukan penetapan kadar abu total dengan menimbang 2 g ekstrak di dalam krus porselen yang telah dipijarkan pada suhu $800^\circ \pm 25^\circ\text{C}$ sampai bebas karbon kemudian didinginkan dalam desikator setelah itu ditimbang (Kemenkes RI, 2017).

Pembuatan Sediaan Krim

Setil alkohol dan asam stearat dilebur dalam cawan uap di atas waterbath pada suhu 70°C (M1). Fase triethanolamin, methyl paraben dan gliserin dilarutkan ke air panas (M2). Fase air dimasukkan ke dalam fase minyak, pada mortar panas sampai homogen (M3). Ketika basis krim telah dingin, ditambahkan ekstrak lalu diaduk hingga homogen. Formula krim terlihat pada Tabel I.

Tabel I. Formula krim M/A

Bahan	Formula (%) b/v			
	F1	F2	F3	F4
Ekstrak daun kopi arabika		1,5	2	2,5
Asam Stearat	13	13	13	13
Setil Alkohol	5	5	5	5
Gliserin	10	10	10	10
Triethanaolamin	4	4	4	4
Methyl Paraben	0,2	0,2	0,2	0,2
akuades	ad 100 mL	ad 100 mL	ad 100 mL	ad 100 mL

Evaluasi Sediaan Krim

Sediaan krim ekstrak daun kopi arabika dilakukan pengecekan terhadap homogenitas, penentuan tipe emulsi (metode warna), viskositas, daya sebar, pH, organoleptis, dan daya lekat, pemisahan fase (*freeze thaw* dan sentrifugasi). Hal tersebut dilakukan untuk mengetahui karakteristik dari sediaan sesuai standar sediaan kosmetik (Noviardi et al., 2019).

Uji homogenitas dilakukan dengan cara mengoleskan sediaan di atas *object glass*, diamati jika terjadi pemisahan (Juwita et al., 2013). Penentuan tipe emulsi menggunakan metode warna dilakukan dengan mencampurkan bahan pewarna (metilen *blue*) ke dalam sediaan krim. Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop, jika seluruh emulsi

berwarna seragam, maka emulsi yang diuji berjenis M/A (Smaoui et al., 2017). Uji pH dilakukan dengan pH meter yang telah dikalibrasi, lalu elektroda pH dicelupkan ke dalam sediaan krim. Diamati pada layar pH meter (Nugrahaeni et al., 2018). Uji daya sebar dengan cara ditimbang sebanyak 1 gram krim diletakkan di atas cawan petri, dan ditambahkan pemberat 125 mg di atasnya, diukur diameter yang terbentuk setelah 1 menit (Noviardi et al., 2019). Uji daya lekat dilakukan dengan menimbang 1 gram krim ekstrak daun kopi arabika diletakkan di atas gelas objek lalu letakkan gelas objek lain di atas krim, ditambahkan bebas beban 1 Kg. Dilepas beban seberat 80 Kg, dicatat waktunya hingga kedua gelas objek terlepas (Smaoui et al., 2017). Uji viskositas menggunakan alat viscometer Brookfield tipe DV RVE, yaitu dengan memasang spindle no.6 pada alat, dibaca dan dicatat skalanya (Noviardi et al., 2019).

Uji pemisahan fase meliputi uji *freeze thaw* dan uji sentrifugasi. Siklus pemisahan fase dengan metode *freeze thaw* pada sediaan krim dilakukan 6 siklus untuk tiap formula (Noviardi et al., 2019). Setiap siklusnya dilakukan pengamatan setelah 48 jam pada suhu 4°C dan 48 jam setelah pada suhu 45° selama 24 hari, lalu diamati yang terjadi. Pada uji sentrifugasi sebanyak 10 gram dari sampel krim ekstrak daun kopi arabika dimasukkan ke tabung sentrifugasi, dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 3750 rpm selama 5 jam, lalu diamati yang terjadi.

Penentuan Nilai FPS

a. Penentuan Nilai FPS Ekstrak Daun Kopi Arabika

Ekstrak daun *Coffea arabica* L. yang diperoleh dilarutkan dengan etanol p.a dengan konsentrasi masing-masing 60, 80, dan 100 ppm. Masing-masing konsentrasi diamati serapannya panjang gelombang 290-320 nm menggunakan spektrofotometer yang telah dikalibrasi terlebih dahulu menggunakan etanol p.a sebagai blanko sebanyak 1 mL dan dimasukkan ke dalam kuvet (Donglikar and Deore, 2016) Hasil absorbansi konsentrasi masing-masing krim dicatat, kemudian dihitung nilai FPS-nya, dengan rumus 1 (Mansur, 1986).

$$FPS = CF \times \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \times I(\lambda) \times Abs(\lambda) \dots\dots\dots(1)$$

b. Penentuan Nilai FPS Krim Ekstrak Daun Kopi Arabika

Penentuan efektivitas dilakukan dengan menentukan nilai FPS menggunakan metode spektrofotometri. Prosedur dilakukan terhadap sediaan krim ekstrak pada konsentrasi 0%, 1,5%, 2%, 2,5%. Krim ditimbang sebanyak 20 mg, masing-masing krim dimasukkan ke labu ukur 5 mL, diencerkan dengan etanol p.a, kemudian diultrasonikasi selama 5 menit. Spektrofotometer uv-vis dikalibrasi terlebih dahulu dengan menggunakan etanol p.a 1 mL. Dibuat kurva serapan uji dalam kuvet dengan panjang gelombang antara 290-320 nm (Donglikar and Deore, 2016). Hasil absorbansi dicatat, hitung nilai FPSnya. Nilai FPS dihitung dengan mengalikan nilai faktor koreksi (CF), spektrum efek eritemal (EE), spektrum intensitas (I) dan juga absorbansi (Abs) dari sampel. Nilai EE terlihat pada Tabel II.

Tabel II. Nilai $EE \times I$ pada variasi Panjang gelombang (Mansur, 1986)

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

Analisis Data

Analisis data sediaan didapatkan dari hasil pengujian karakteristik fisik krim secara kualitatif dan dilanjutkan dengan analisis statistik menggunakan analisis anova satu arah untuk mengetahui nilai faktor pelindung surya krim yang didapat dengan taraf kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$). Jika ada perbedaan bermakna diantara formula maka dilanjutkan dengan uji tukey untuk menentukan nilai faktor pelindung surya formula manakah yang terbaik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil identifikasi tanaman yang digunakan adalah *Coffea arabica* L. dikenal dengan nama daun kopi arabika yang termasuk ke dalam suku rubiaceae. Dari hasil pemeriksaan ekstrak daun kopi arabika berbentuk ekstrak kental, bau kopi khas, rasa pahit, warna coklat kehitaman, memiliki susut pengeringan $6,61\% \pm 0,43$ memenuhi syarat dari Depkes RI yaitu tidak boleh dari 10% (2008). Kadar abu total ekstrak daun kopi arabika $9,38\% \pm 0,46$ memenuhi syarat Depkes RI (2008) yakni tidak boleh $> 16,6\%$. Rendemen, susut pengeringan dan kadar abu total dari sampel terlihat pada Tabel III.

Tabel III. Hasil pemeriksaan organoleptik ekstrak daun kopi arabika

Pemeriksaan	Hasil
Rendemen	9,8%
Susut Pengeringan	6,61 % \pm 0,43
Kadar Abu Total	9,38% \pm 0,46

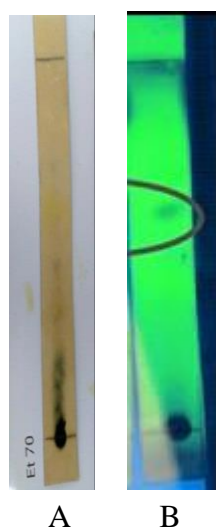
Tabel IV. Hasil uji fitokimia ekstrak daun kopi arabika

Senyawa	Hasil
Alkaloid	+
Flavonoid	+
Saponin	+
Fenolik	+
Tanin	+
Steroid	+
Triterpenoid	-

Penapisan fitokimia dilakukan dengan tujuan untuk memberikan gambaran tentang golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak, seperti terlihat pada Tabel IV. Identifikasi alkaloid dilakukan dengan 3 cara yaitu dengan penambahan reagen mayer menunjukkan adanya endapan berwarna kuning, reagen dragendroff menunjukkan adanya endapan putih kekuningan, reagen wagner menunjukkan adanya endapan coklat. Identifikasi flavonoid dilakukan dengan menambahkan serbuk Mg ditambah pHCl pekat, hasil positif yang didapat menunjukkan terjadinya perubahan warna merah. Identifikasi saponin ditandai dengan terbentuknya buih, hasil positif yang didapat menunjukkan terbentuknya buih setinggi 1-10 cm. Identifikasi fenolik dilakukan dengan penambahan reagen FeCl₃, hasil positif yang didapat terbentuk warna warna hitam pekat. Identifikasi tanin dilakukan dengan penambahan 1% gelatin dalam 10% NaCl, hasil positif yang didapatkan adalah terbentuknya endapan putih. Identifikasi steroid dilakukan dengan

penambahan reagen Lieberman bouchardat, hasil positif yang didapat menunjukkan warna merah dan pada identifikasi triterpenoid hasil yang didapatkan adalah negatif.

Pada pengujian identifikasi senyawa fenol menggunakan KLT dilakukan untuk mengidentifikasi secara kualitatif memastikan bahwa ekstrak mengandung senyawa fenol. Uji KLT dilakukan untuk melihat senyawa fenol di dalam ekstrak, selain itu untuk mempertegas dalam mengidentifikasi senyawa fenol secara kualitatif, hal ini dapat dilihat jumlah bercak di plat KLT (Kemenkes, 2017)



Gambar 1. Kromatogram ekstrak daun kopi arabika fase gerak kloroform:etil asetat: asam format (5:4:1) [A] plat setelah disemprot FeCl_3 (B) plat yang disinari UV 254 nm dengan nilai $R_f=0,7419$

Hasil KLT menunjukkan bercak biru kehitaman pada sinar UV 254 nm, pada UV 366 nm tidak ditemukan bercak. Kemudian dilakukan penyemprotan lempeng menggunakan FeCl_3 digunakan untuk mendeteksi senyawa golongan fenol yang terlihat dengan adanya warna noda ungu coklat yang terbentuk. Hasil KLT dapat dilihat pada Gambar 1.

Uji organoleptis formula krim ekstrak daun kopi arabika dilakukan secara visual. Hasil uji organoleptis dapat dilihat pada Tabel V.

Tabel V. Uji organoleptis formula krim dengan variasi konsentrasi ekstrak daun kopi

Formula	Bau	Bentuk	Warna
F1	Khas	Semisolid	Putih
F2	Khas	Semisolid	Coklat muda
F3	Khas	Semisolid	Coklat
F4	Khas	Semisolid	Coklat Tua

Semua formula krim ekstrak daun kopi arabika memenuhi persyaratan uji organoleptis yaitu berbentuk semisolid, memiliki warna coklat muda hingga coklat tua karena konsentrasi ekstrak daun kopi yang ditambahkan semakin bertambah sehingga warna dalam krim semakin pekat.

Homogenitas

Hasil yang didapat pada keempat formula krim memperlihatkan semua formula krim ekstrak daun kopi arabika memenuhi persyaratan homogenitas.

Tipe Emulsi

Hasil pengujian penentuan tipe krim dengan metode warna menunjukkan metilen blue yang digunakan sebagai pereaksi dapat larut dalam fase luar yaitu air dalam sediaan krim dan terdapat perubahan warna biru yang homogen. Berdasarkan hasil yang telah dilakukan, keempat formula termasuk tipe krim minyak dalam air karena pada saat ditetaskan metilen blue, berdifusi merata ke seluruh bagian (Suryati *et al.*, 2015).

pH

Dari hasil yang didapatkan pH krim menurun seiring dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak daun kopi arabika (*Coffea arabica* L.). Hal tersebut dikarenakan ekstrak memiliki pH asam lemah 6,16. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin mendekati pH ekstrak. Penurunan pH krim kecil karena kandungan flavonoid pada ekstrak (Ebrahimzadeh *et al.*, 2014). Nilai pH pada sediaan krim yang mengandung ekstrak diperoleh berkisar $6,26-7,18 \pm 0,001$ sementara itu pH basis krim adalah $7,38 \pm 0,001$. Menurut Standar SNI 16-4399-1996 persyaratan pH sediaan tabir surya 4,5-8,0, hal ini menunjukkan pH krim sesuai dengan standar mutu sediaan kosmetik.

Daya Sebar

Daya sebar yang dihasilkan $6,6 \pm 0,01 - 5,5 \pm 0,00$ cm. Variasi konsentrasi ekstrak mempengaruhi daya sebar krim yang dihasilkan, semakin meningkat konsentrasi ekstrak maka semakin kecil daya sebar yang dihasilkan yang meningkatkan viskositas sehingga nilai daya sebar berbanding terbalik dengan nilai viskositas. Semakin kecil nilai daya sebar suatu

krim maka semakin besar nilai viskositasnya. Daya sebar 5-7 cm berarti sediaan nyaman untuk digunakan. Berdasarkan hasil pengujian daya sebar keempat formula memenuhi persyaratan uji daya sebar sediaan yang baik.

Tabel VI. Daya sebar

Formula	Daya sebar (cm)
F1	6,6±0,01
F2	6,2±0,00
F3	6,2±0,00
F4	5,5±0,01

Viskositas

Uji viskositas menggunakan alat viscometer Brookfield tipe RV DVE dengan spindle no. 6 pada kecepatan 10 rpm, hasil menunjukkan adanya peningkatan viskositas yang berkisar antara 36566-45966±0,003cps. Menurut SNI 16-4399-1996 tentang standar mutu sediaan krim tabir surya, viskositas sediaan yang baik berkisar antara 2000-50000 cps. Berdasarkan data pengukuran viskositas keempat formula memenuhi persyaratan fisik sediaan krim yang baik (Maliana et al., 2016).

Daya Lekat

Daya lekat yang baik akan membuat krim tidak mudah lepas, jika semakin lama melekat pada kulit maka menghasilkan efek yang diinginkan. Persyaratan daya lekat yang baik untuk sediaan krim adalah tidak kurang dari 4 detik (Puspitasari et al., 2018). Berdasarkan hasil pengujian semua formula sesuai dengan literatur yaitu pada F1 7±0,00 detik, F2 9 ±0,00 detik, F3 dan F4 13±0,00 detik, menunjukkan adanya peningkatan daya lekat. Hal ini terjadi karena daya lekat berbanding lurus dengan nilai viskositas, semakin tinggi nilai viskositas suatu sediaan semakin lama waktu sediaan krim melekat pada kulit.

Uji *Freeze Thaw*

Uji pemisahan fase dengan metode *freeze thaw* dilakukan 6 siklus atau 24 hari. Sediaan harus tidak menunjukkan tanda-tanda pemisahan selama paling sedikit 6/8 siklus pemanasan dan pendinginan (Noviardi et al., 2019). Uji *freeze thaw* dilakukan pada 4°C dan 45°C. Siklus pemisahan fase dengan metode *freeze thaw* dilakukan dengan cara sediaan krim disimpan pada 4°C selama 48 jam, penyimpanan sediaan krim pada 45°C selama 48 jam (1 siklus). Penyimpanan dilakukan selama 6 siklus dan diamati setiap

siklusnya. Hasil pengamatan organoleptis uji *freeze thaw* selama 6 siklus pada sediaan krim memperlihatkan tidak terjadi pemisahan, hal tersebut menunjukkan sediaan krim yang dihasilkan stabil secara fisik terhadap perubahan suhu.

Uji Sentrifugasi

Hasil pengamatan uji sentrifugasi menunjukkan sediaan krim ekstrak daun kopi arabika tidak terjadi pemisahan sehingga memenuhi persyaratan sediaan kosmetik yang baik (Noviardi et al., 2019).

Nilai FPS

Hasil pengamatan nilai faktor pelindung surya dapat dilihat pada Tabel VII.

Tabel VII. Hasil pengamatan nilai FPS

Sampel	Nilai FPS	Kategori Proteksi
Ekstrak 60 ppm	2,1 ± 0,04	Proteksi Minimal
Ekstrak 80 ppm	2,57 ± 0,03	Proteksi Minimal
Ekstrak 100 ppm	3,68 ± 0,11	Proteksi Minimal
F1	1,8 ± 0,18	Proteksi Rendah
F2	4,58 ± 0,11	Proteksi Sedang
F3	4,71 ± 0,08	Proteksi Sedang
F4	5,54 ± 0,05	Proteksi Sedang

Berdasarkan pengelompokan nilai FPS pada ketentuan FDA (*Food and Drug Administration*) dapat dilihat pada Tabel II. Hasil pengujian yang telah dilakukan pada konsentrasi ekstrak etanol 70% daun kopi arabika (*Coffea arabica* L.) 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm masing-masing memiliki nilai 2,1; 2,57; dan 3,68, bersifat proteksi minimal. Dari keempat formula F4 memiliki nilai FPS yang paling tinggi yaitu sebesar 5,54 bersifat proteksi sedang, sedangkan pada pengujian formula F2 dan F3 memiliki nilai 4,58; 4,71 bersifat proteksi sedang. Pengujian yang dilakukan pada basis krim tanpa ekstrak sebesar 1,8 bersifat proteksi rendah. Hal tersebut menunjukkan basis krim memberikan pengaruh terhadap nilai FPS apabila divariasikan dengan ekstrak etanol 70% daun kopi arabika yang ditambahkan pada sediaan krim maka semakin besar konsentrasi ekstrak sehingga semakin tinggi nilai faktor pelindung suryanya. Berdasarkan penelitian sebelumnya (Puspitasari et al., 2018) formulasi krim tabir surya ekstrak daun kersen didapatkan hasil

bahwa semakin bertambahnya konsentrasi pada ekstrak, sehingga semakin tinggi nilai faktor pelindung surya.

Berdasarkan perhitungan statistik pada analisis data yang diuji yaitu nilai faktor pelindung surya krim ekstrak diawali dengan uji normalitas menggunakan analisis kolmogorof-smirnov dengan H_0 data terdistribusi normal. Hasilnya didapatkan nilai signifikansi $(0,164) > \alpha (0,05)$ artinya H_0 diterima sehingga data nilai FPS terdistribusi normal. Kemudian dilanjutkan uji homogenitas dengan H_0 data terdistribusi homogen. Hasil uji homogenitas menunjukkan nilai sig $(0,300) > \alpha (0,05)$ artinya H_0 diterima, sehingga data nilai FPS terdistribusi homogen. Hasil yang didapatkan data berdistribusi normal serta homogen maka dilanjutkan menggunakan analisis anova satu arah dengan H_0 tidak ada perbedaan bermakna antar formula. Hasil uji anova satu arah didapatkan nilai signifikansi $(0,000) < \alpha (0,05)$ maka H_0 ditolak menunjukkan adanya perbedaan bermakna antar formula. Selanjutnya dilakukan uji Tukey HSD untuk menunjukkan formula mana saja yang berbeda bermakna. Hasil menunjukkan F1 dengan F2, F3 dan F4, F2 dengan F1 dan F4, F3 dengan F1 dan F4 mempunyai perbedaan bermakna.

KESIMPULAN

Dapat disimpulkan ekstrak daun kopi arabika dapat diformulasi dalam krim yang memenuhi persyaratan kosmetika tabir surya pada F4 konsentrasi 2,5% didapat hasil tertinggi dengan nilai FPS $5,54 \pm 0,05$ atau bersifat proteksi sedang, memiliki daya lekat $13 \pm 0,00$ detik, daya sebar $5,5 \pm 0,01$ cm, pH $6,26 \pm 0,01$, serta viskositas $45966 \pm 0,03$ cps, serta tidak terjadi pemisahan pada perubahan suhu.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengembangan UHAMKA yang telah membiayai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Almeida, W. A. da S., Antunes, A. dos S., Penido, R. G., Correa, H. S. da G., Nascimento, A. M. do, Andrade, Â. L., Santos, V. R., Cazati, T., Amparo, T. R., Souza, G. H. B. de, Freitas, K. M., Santos, O. D. H. dos, Sousa, L. R. D., & Santos, V. M. R. dos.

- (2019). Photoprotective activity and increase of SPF in sunscreen formulation using lyophilized red propolis extracts from Alagoas. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 29(3), 373–380.
- Ebrahimzadeh, M. A., Enayatifard, R., Khalili, M., Ghaffarloo, M., Saeedi, M., & Charatic, J. Y. (2014). Correlation between sun protection factor and antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some medicinal plants. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 13(3), 1041–48.
- Geraldine, E. T., & Hastuti, E. D. (2018). Formulation Of Sunscreen cream of parijoto fruit extract (*Medinilla Speciosa Blume*) and in Vitro Spf Value Test. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Community*, 15(2), 92–98.
- Juwita, A. P., Yamlean, P. V. ., & Edy, H. J. (2013). Formulasi krim ekstrak etanol daun lamun. *Parmachon Jurnal Ilmiah Farmasi*, 2(2), 8–13.
- Kemenkes RI. (2017). *Farmakope Herbal Indonesia Edisi 2*.
- Khotimah, K. (2014). Karakteristik kimia kopi kawa dari berbagai umur helai daun kopi yang diproses dengan metode berbeda. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 9(1), 40–48.
- Maliana, D., Nuryanti, N., & Harwoko, H. (2016). Formulasi sediaan krim antioksidan ekstrak etanolik daun Alpukat (*Persea americana Mill.*). *Acta Pharmaciae Indonesia : Acta Pharm Indo*, 4(2), 7–15.
- Manikrao Donglikar, M., & Laxman Deore, S. (2016). Sunscreens: a review. *Pharmacognosy Journal*, 8(3), 171–179.
- Maske, P. P., Lokapure, S. G., Nimbalkar, D., Malavi, S., & D'souza, J. I. (2013). In vitro determination of sun protection factor and chemical stability of *Rosa kordesii* extract gel. *Journal of Pharmacy Research*, 7(6), 520–524.
- Mukund Manikrao Donglikar, & Deore, S. L. (2016). Synthetic and natural sunscreens: a review. *Pharmacognosy Journal*, 8(3), 171–179.
- Mutalik, S., Shetty, P. K., Venuvanka, V., Jagani, H. V., Gejjalagere, C. H., Nayak, U. Y., Musmade, P. B., Reddy, M. S., Kalthur, G., Udupa, N., Ligade, V. S., & Rao,

- C. M. (2015). Development and evaluation of sunscreen creams containing morin-encapsulated nanoparticles for enhanced UV radiation protection and antioxidant activity. *International Journal of Nanomedicine*, 10, 6477.
- Noviardi, H., Ratnasari, D., & Fermadianto, M. (2019). Formulasi Sediaan Krim Tabir Surya dari Ekstrak Etanol Buah Bisbul (*Diospyros blancoi*) (Sunscreen Cream Formulation of Bisbul fruit (*Diospyros blancoi*) Ethanol Extract). *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 17(2), 262–271.
- Nugrahaeni, F., Rosita, N., & Hariyadi, D. (2018). Partition coefficient and glutathione penetration of topical antiaging: preformulation study. *International Journal of Drug Delivery Technology*, 8(2), 39–43.
- Puspitasari, A. D., Andini, D., Mulangsri, K., & Hasyim. (2018). *Formulasi Krim Tabir Surya Ekstrak Etanol Daun Kersen (Muntingia calabura L.) untuk Kesehatan Kulit*. 1, 263–270.
- Puspitasari, A. D., Mulangsri, D. A. K., & Herlina, H. (2018). Formulasi Krim Tabir Surya Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura L.*) untuk Kesehatan Kulit. *Media Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan*, 28(4), 263–270.
- Puspitasari, A. D., Yuita, N. E., & Sumantri, S. (2017). Krim antioksidan ekstrak etanol daun kopi Arabika (*Coffea Arabica*). *Jurnal Ilmiah Teknosains*, 3(2), 82–88.
- Rodríguez-Gómez, R., Vanheuverzwjin, J., Souard, F., Delporte, C., Stevigny, C., Stoffelen, P., De Braekeleer, K., & Kauffmann, J.-M. (2018). Determination of Three Main Chlorogenic Acids in Water Extracts of Coffee Leaves by Liquid Chromatography Coupled to an Electrochemical Detector. *Antioxidants*, 7(10), 143.
- Setiawan, E. A., Muhammad, D. R. A., & Siswanti, S. (2015). Pengaruh penyaringan daun kopi Robusta (*Coffea robusta*) terhadap karakteristik kimia dan sensory minuman penyegar. *Jurnal Teknosains Pangan*, 4(2), 1–9.
- Smaoui, S., Ben Hlima, H., Ben Chobba, I., & Kadri, A. (2017). Development and stability studies of sunscreen cream formulations containing three photo-protective filters. *Arabian Journal of Chemistry*, 10, S1216–S1222.

Suryati, Lucida, H., & Dachriyanus. (2015). Formulation of sunscreen cream of germanicol cinnamate from the leaves of tabat barito (*Ficus deltoides* jack) and an assay of its' sun protection factor. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 32(1), 104–107.

Yuliawati, K. M., Sadiyah, E. R., Solehati, R., & Elgiawan, A. (2019). Sunscreen activity testing of Robusta Coffee (*Coffea Canephora* Ex Froehner) Leave Extract and Fractions pengujian aktivitas tabir surya ekstrak dan fraksi daun Kopi Robusta (*Coffea Canephora*). *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 1(1), 24–29.



UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA
FAKULTAS FARMASI DAN SAINS

Jl. Limau II, Kebayoran Baru, Jakarta 12130 Tel. (021) 7208177, 722886, Fax. (021) 7261226, 7256620
Islamic Centre, Jl. Delima II/IV, Klender, Jakarta Timur Tlp.: (021) 8611070, Fax. (021) 86603233
Website: www.ffi-uhamka.ac.id; E-mail: ffi@uhamka.ac.id

SURAT TUGAS
MELAKUKAN KEGIATAN PENELITIAN DAN PUBLIKASI
NO. 895/F.03.08/2021

Bismillahirrohmanirrohiim,

Yang bertanda tangan di bawah ini

N a m a	Dr. apt. Hadi Sunaryo, M.Si.
NIDN	0325067201
Pangkat /Jabatan Akademik	Penata Tk. I, IIIId/ Lektor Kepala
Jabatan	Dekan
Unit Kerja	Fakultas Farmasi dan Sains UHAMKA Jakarta

Memberikan tugas Penelitian dan Publikasi pada **tahun akademik 2020/2021** kepada:

N a m a	Sofia Fatmawati, M.Si., Apt
NID/NIDN	D.18.1309/ 0624038901
Pangkat /Jabatan Akademik	Penata Muda Tk. I/ III-B
Jabatan Fungsional	Asisten Ahli
Unit Kerja	Fakultas Farmasi dan Sains UHAMKA Jakarta

Untuk Melaksanakan Penelitian dan Publikasi sebagai berikut:

NO	JUDUL PENELITIAN DAN PUBLIKASI
1.	The Effect of Ethanol Concentrations as The Extraction Solvent on Antioxidant Activity of Katuk (<i>Sauropus androgynus</i> (L.) Merr.) Leaves Extracts

Demikian surat tugas ini diberikan kepada yang bersangkutan untuk dilaksanakan dengan penuh amanah dan tanggung jawab

Jakarta, 06 Maret 2021

Dekan,

Dr. apt. Hadi Sunaryo, M.Si.

Tembusan Yth:

1. Rektor UHAMKA Jakarta
2. Wakil Rektor I dan II UHAMKA Jakarta
3. Arsip

Analisis Timbal Pada Pensil Alis dan Perona Mata Lokal Yang Beredar di Toko Online Menggunakan Metode Spektrofotometri Visible

Sofia Fatmawati¹, Almawati Situmorang¹, Anisa Nur Pitria², Nur Sabila Rosyidah²

¹Laboratorium Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi dan Sains, Universitas Muhammadiyah Prof Dr Hamka, Jakarta

² Fakultas Farmasi dan Sains, Universitas Muhammadiyah Prof Dr Hamka, Jakarta

*Penulis korespondensi: sofia.fatmawati@uhamka.ac.id

DOI: <https://doi.org/10.24198/cna.v9.n2.34158>

Abstrak: Timbal merupakan logam berat yang bersifat beracun dan berbahaya jika masuk ke dalam tubuh manusia. Sifat timbal yang mudah larut dalam minyak dan lemak, bisa diserap melalui selaput atau lapisan kulit jika logam timbal tersebut berada di dalam produk kosmetik atau produk lain yang bersentuhan langsung dengan kulit. Oleh karena itu dilakukan analisis timbal pada kosmetik lokal yaitu pensil alis dan perona mata yang berada di toko online. Analisis timbal pada sampel dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometri *visible* dengan penambahan reagen alizarin sulfonat pada sampel yang sebelumnya telah melalui proses destruksi. Verifikasi metode analisis timbal pada pensil alis dan perona mata dinyatakan memenuhi syarat, dari beberapa parameter diantaranya adalah uji linieritas dengan nilai koefisien korelasi sebesar 0,9990, uji akurasi dengan nilai %recovery rata-rata sebesar 96,24% untuk pensil alis dan 96,38% untuk perona mata serta uji presisi diperoleh nilai standar deviasi kurang dari 2% pada semua konsentrasi. Hasil analisis dari sampel pensil alis di toko *online* menunjukkan ada satu dari tiga sampel pensil alis yang memiliki kadar timbal melebihi persyaratan BPOM yaitu < 20 mg/kg. Tiga sampel perona mata yang diambil di toko online semuanya memenuhi syarat BPOM.

Kata kunci: Timbal, Kosmetik, Pensil Alis, Perona Mata

Abstract: Lead is a toxic heavy metal when it enters the human body. The nature of lead which is easily soluble in oils and fats, can be absorbed through the membrane or layers of the skin if it is present in cosmetics or other products that come into direct contact with the skin. Therefore, a lead analysis was carried out on local cosmetics, such as eyebrow pencils and eyeshadow in online stores. Lead analysis in samples was carried out using visible spectrophotometric method with the addition of alizarin sulfonate reagent to samples that had digested. The verification of the lead analysis method on pencil eyebrow pencil and eye shadow is declared to meet the requirements, from several parameters including the linearity test with a correlation coefficient value of 0.9990, the accuracy test with an average % recovery value of 96.24% for eyebrow pencils and 96.38% for eye shadow and precision test obtained a standard deviation value of less than 2% at all concentrations. The results of the analysis of the eyebrow pencil samples in the online store showed that one of the three eyebrow pencil samples had lead levels exceeding the BPOM requirements, namely < 20 mg/kg. The three eyeshadow samples taken at the online shop all meet the BPOM requirements

Keywords: Lead,, Cosmetic, Eyebrow Pencil, Eyeshadow

PENDAHULUAN

Pada zaman modern ini penggunaan kosmetik untuk menambah estetika semakin hari semakin meningkat, terutama di kalangan wanita (Mamoto & Citraningtyas 2013). Menurut permenkes No. 220 tahun 1976, kosmetik adalah bahan atau campuran bahan untuk digosok, diletakan, dituangkan, dipercikan atau disemprotkan pada badan atau bagian badan manusia dengan maksud untuk membersihkan, memelihara, menambah daya tarik atau mengubah rupa, dan tidak termasuk golongan obat. Definisi

tersebut jelas menunjukkan bahwa kosmetik bukan suatu obat yang dipakai untuk diagnosis, pengobatan maupun pencegahan penyakit (Wasitaatmmadja 1997).

Kosmetik tidak hanya digunakan untuk fungsi estetika, akan tetapi berperan dalam penyembuhan dan perawatan kulit. Meski bukan kebutuhan primer namun kosmetik merupakan salah satu produk yang digunakan secara rutin dan terus-menerus oleh manusia (Erasiska dkk. 2015). Kosmetik menjadi sesuatu yang cukup penting khususnya bagi wanita.

Perona mata dan pensil alis adalah salah satu kosmetik yang banyak digemari para wanita. Perona mata digunakan sebagai perona mata untuk membuat riasan wajah menjadi lebih menarik dan pensil alis digunakan sebagai alat untuk memperbaiki garis atau bentuk alis. Penggunaan perona mata adalah di kelopak mata dan di bawah alis. Kosmetik ini digunakan dengan tujuan untuk membuat tampilan mata menjadi lebih menarik. Sediaan kosmetik ini sangat umum berisi pigmen warna. Pada proses manufaktur kosmetik, logam seperti timbal (Pb), arsen (Ar), kadmium (Cd), krom (Cr), nikel (Ni) seringkali ditemukan sebagai bahan campuran pigmen, pengawet dan tabir surya (Li *et al.* 2015; Arshad *et al.* 2020).

Timbal merupakan unsur kimia yang memiliki lambang Pb dan nomor atom 82. Timbal dapat ditemukan di sekitar kita. Industri memproduksi sekitar 2,5 juta ton timbal per tahunnya. Sebagian besar timbal berasal dari aktivitas manusia seperti pertambangan, manufaktur dan pembakaran bahan bakar fosil (Tchounwou *et al.* 2012). Menurut Jaya dkk. (2013) penggunaan timbal pada kosmetik biasanya ditambahkan untuk sediaan warna. Kandungan logam berat pada kosmetik memiliki efek samping jika digunakan dalam kadar yang berlebih karena logam berat akan berpenetrasi lalu terabsorpsi pada kulit. Logam berat akan masuk ke dalam aliran darah sehingga mengakibatkan gangguan pada kesehatan.

Menurut Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 17 tahun 2014 tentang persyaratan cemaran mikroba dan logam berat dalam kosmetika bahwa batas aman cemaran untuk logam berat timbal adalah tidak lebih dari 20 mg/kg atau 20 mg/L (20 bpj). Masyarakat perlu dilindungi dari peredaran kosmetika yang tidak memenuhi persyaratan keamanan, kemanfaatan dan mutu karena kosmetika yang mengandung logam berat melebihi persyaratan dapat merugikan dan/atau membahayakan kesehatan masyarakat itu sendiri.

Pada penelitian sebelumnya mengenai cemaran logam yang telah dilakukan oleh Fatmawati (2019) penentuan kadar Pb pada sediaan perona mata dengan destruksi kering, diperoleh data kadar timbal sampel perona mata yang tidak teregisterasi yaitu 127,356; 16,194 dan 6,864 ppm. Sedangkan kadar sampel perona mata yang teregisterasi yaitu 3,801; 7,605 dan 2,331 ppm. Dari semua sampel terdapat 1 sampel yang tidak aman untuk digunakan. Sedangkan pada penelitian Amalullia (2016) penentuan kadar Pb pada sediaan perona mata dengan destruksi basah, diperoleh data kadar timbal sampel perona mata warna hitam nonBPOM 26,56 ppm, BPOM 34,23 ppm, sedangkan warna hijau nonBPOM 45,3 ppm, BPOM 45,9 ppm. Dinyatakan bahwa semua sampel mengandung kadar timbal yang melebihi batas aman.

Penelitian yang dilakukan oleh Arifiyana & Ferry (2018) untuk menentukan kandungan logam berat

timbal dalam produk kosmetik yaitu pensil alis teregistrasi dan tidak teregistrasi BPOM yang diambil dari sejumlah pasar di Surabaya dengan menggunakan destruksi basah. Kisaran kandungan logam timbal yang di temukan pada produk kosmetik pensil alis yang teregistrasi dan tidak teregistrasi BPOM adalah 1,092-5,834 mg/kg. Pada penelitian yang dilakukan Dhiendy *et al.* (2015) dengan menggunakan metode destruksi kering pada Eye-Liner diperoleh hasil penelitian lima sampel positif mengandung logam Pb dengan kadar 4,0157, 1,5480, 0,9136, 1,0739, dan 0,9961 µg/g (ppm). Berdasarkan hasil kandungan logam timbal pada kedua penelitian tersebut, dari beberapa sampel dinyatakan masih dalam batas aman yang sudah ditetapkan BPOM RI, yaitu pada rentang ≤ 20 mg/kg untuk logam timbal (Pb) dalam kosmetika.

Spektrofotometri serapan atom digunakan untuk penentuan konsentrasi suatu unsur logam yang terkandung dalam larutan dengan konsentrasi sangat kecil. Metode SSA digunakan karena ketelitian yang cukup tinggi, cepat dan relatif mudah (Gandjar & Rohman 2009). Meskipun metode ini telah tervalidasi, namun ketersediaan instrumennya masih terbatas. Metode lain yang dapat digunakan untuk mengukur kadar timbal adalah dengan menggunakan spektrofotometri Visibel.

Pengukuran kadar timbal dengan spektrofotometri UV-Vis dilakukan dengan menggunakan reagen pengompleks Alizarin Red S (ARS) sehingga dihasilkan senyawa kompleks timbal yang dapat mengabsorpsi radiasi pada panjang gelombang UV-Vis (Alsamarrai 2011; Rajni & Usha 2005). Aldinomera dkk. (2014) telah berhasil menetapkan kadar timbal dengan metode spektrofotometri UV-Vis pada sampel sederhana yaitu air sungai. Metode ini dilakukan dengan penambahan Alizarin sulfonat yang bisa membentuk senyawa kompleks dengan timbal.

Sampel dalam matriks yang kompleks seperti kosmetik harus dilakukan preparasi terlebih dahulu sebelum analisis, bertujuan untuk mengubah analit menjadi bentuk yang dapat diukur tanpa dipengaruhi senyawa lain. Preparasi sampel dilakukan menggunakan metode destruksi, dimana jenis destruksi yang digunakan yaitu destruksi kering. Metode destruksi kering yang di gunakan di ambil dari penelitian sebelumnya oleh Dhiendy *et al.* (2015). Metode analisis yang digunakan perlu terlebih dahulu dilakukan validasi metode sehingga nantinya data yang diperoleh dapat dipercaya. Suatu metode dinyatakan valid apabila telah memenuhi syarat akurasi, presisi, linieritas serta spesifisitas yang baik (Riyanto 2014).

Saat ini, ada kecenderungan kuat di media sosial untuk mempromosikan kosmetik mahal dan bergengsi seperti perona mata. Keunggulan dari bisnis online ini adalah selain mudah dalam melakukan promosi, juga sangat efisien. Di samping itu kemudahan dalam mencari informasi tentang

produk, harga, pemilihan atau ketersediaan produk merupakan alasan konsumen memilih belanja online (Arwiedya 2011). Banyak kelompok sosial yang situasi keuangannya tidak memungkinkan pembelian produk asli yang mahal. Alternatif yang semakin populer saat ini adalah membeli kosmetik dari pengecer online. Produk kosmetik yang dijual secara online terlihat seperti produk asli, tetapi dapat diperoleh untuk harga yang jauh lebih rendah karena persaingan harga online (Jamaludin 2015).

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan sampel yang digunakan untuk penelitian adalah produk kosmetik perona mata dan pensil alis lokal teregistrasi BPOM yang dibeli di toko online. Bahan lain yang digunakan yaitu Kalium Kromat (K_2CrO_4), Kalium Sianida (KCN), asam nitrat (HNO_3 pa), asam klorida (HCl pa), aquadest, aquabidest, larutan induk Pb, larutan induk Alizarin, larutan buffer pH 3, pH 4, pH 5, pH 6, pH 7, pH 8.

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah spektrofotometer UV-Visible (Shimadzu UV-1900), kuvet, hot plate, desikator, oven, tanur, krus porselen, pH meter, timbangan analitik, corong, kertas saring Whatman no. 42, pipet tetes, batang pengaduk, gelas ukur, beaker glass, labu ukur, mikro pipet, pipet tetes, tabung reaksi, rak tabung reaksi, spatula, ayakan mesh no. 60.

Pembuatan Sampel Simulasi

Sampel simulasi perona mata sesuai Formularium Kosmetik Indonesia 1985 hal. 300. Seng oksida yang sudah diayak menggunakan ayakan no mesh 60 sebanyak 4 g dimasukkan kedalam lumpang, gerus hingga homogen, tambahkan 7 g Veegum sedikit demi sedikit sampai tercampur, kemudian tambahkan kaolin 10 g, tambahkan seng stearat 11 g, tambahkan zat warna merah sebanyak 18 g aduk hingga homogen, lalu tambahkan nital – 400 sebanyak 50 g, gerus hingga semua bahan homogen. Sampel simulasi pensil alis sesuai Formularium Kosmetik Indonesia 1985 hal. 323 dengan komposisi parafin, vaselin kuning, ozokerit, hychol, pigmen dan pengawet. Bahan yang bersifat lemak dan minyak dilelehkan, kemudian tambahkan zat warna dan pengawet, setelah itu diaduk hingga homogen, langkah terakhir dituangkan selagi panas ke dalam cetakan, lalu didinginkan sampai berbentuk semi solid.

Pengambilan Sampel Pasaran

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah 3 sampel perona mata dan pensil alis merek A, B dan C yang diperoleh dari beberapa toko online (Shopee). Teknik pengambilan sampel yang digunakan pada penelitian ini yaitu purposive sampling.

Kriteria inklusi untuk pengambilan sampel adalah perona mata warna merah dan pensil alis warna hitam, harga murah (tidak lebih dari Rp. 20.000,00 untuk perona mata dan tidak lebih dari Rp. 20.000,00 untuk pensil alis), produk terlaris, produk lokal, teregistrasi BPOM.

Preparasi Sampel dengan Destruksi Kering

Sampel perona mata dikeluarkan dari wadahnya. Ditimbang sampel sebanyak $\pm 2,00$ g, lalu dimasukkan ke dalam krusibel dan ditambahkan 40 μ L larutan $Pb(NO)_2$ 1000 ppm. Dikeringkan di atas hotplate sampai tidak terdapat asap lagi, kemudian diabukan dalam tanur pada suhu $500^\circ C$ selama 3 jam. Setelah didinginkan, hasil tanur ditambahkan 25 mL larutan HCl 6 M kemudian disaring menggunakan kertas whatmann no.42 ke dalam labu ukur 50 mL dan diencerkan dengan aquabidest sampai tanda batas. Larutan ini siap untuk dianalisis dengan spektrofotometri visibel.

Sampel pensil alis ditimbang sebanyak 2 gram, dimasukkan ke dalam krusibel setelah di spike logam Pb sebanyak 40 μ L. Dikeringkan di atas hotplate sampai tidak terdapat asap lagi, kemudian diabukan dalam tanur pada suhu $500^\circ C$ selama 3 jam. Setelah didinginkan, hasil tanur ditambahkan 25 mL larutan HCl 6 M lalu disaring menggunakan kertas saring whatman no.42 ke dalam labu ukur 50 mL dan diencerkan dengan aquabidest sampai tanda batas. Larutan ini sudah siap untuk dianalisis dengan spektrofotometri visibel.

Uji Kualitatif Timbal (Alsamarrai 2011)

Sebanyak 1 mL larutan sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan KCN sebanyak 0,5 mL. Jika terbentuk endapan putih, maka positif mengandung logam Pb.

Sebanyak 1 mL larutan sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan K_2CrO_4 sebanyak 0,5 mL. Jika terbentuk endapan kuning, maka positif mengandung logam Pb.

Pembuatan Pereaksi Alizarin Sulfonat

Sebanyak 100 mg alizarin sulfonat dilarutkan dengan aqua DM dalam beaker glass, kemudian larutan dipindahkan ke dalam labu ukur 100 mL, tambahkan aqua DM sampai tanda batas 100 mL sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm.

Pembuatan Larutan Standar Timbal(II) Nitrat

Sebanyak 1,599 g timbal nitrat dilarutkan dengan aqua DM dalam beaker glass, kemudian larutan dipindahkan ke dalam labu ukur 1000 mL, tambahkan aqua DM sampai tanda batas 1000 mL sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm.

Penentuan Stabilitas pH dan Operating Time

Disiapkan 3 labu ukur 10 mL, pada masing-masing labu ukur dimasukkan larutan standar timbal sebanyak 500 μ L, masing masing ditambahkan buffer

asetat pH 3,4, dan 5 sebanyak 2 mL, ditambah alizarin sulfonat 1 mL sehingga menghasilkan kompleks alizarin berwarna orange. Kemudian dibaca absorbansinya pada masing-masing panjang gelombang maksimum pada menit ke 0 – 30 setiap rentan waktu 5 menit dan ditentukan pH yang stabil beserta operating time dari masing-masing pH.

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Disiapkan 3 labu ukur 10 mL, pada masing-masing labu ukur dimasukkan larutan standar timbal sebanyak 500 μ L, ditambahkan buffer asetat dengan pH stabilitasnya sebanyak 2 mL, ditambah alizarin sulfonat 1 mL dan ditentukan panjang gelombang maksimum dari masing-masing pH.

Penentuan Kurva Kalibrasi

Hasil ekstraksi sampel spiked larutan standar $Pb(NO)_2$ 2; 6; 12; 18; 24; dan 30 ppm yang telah ditambahkan dengan buffer pH 5 dengan alizarin sulfonat, diukur absorbansi pada panjang gelombang 546 nm.

Validasi Metode

Linieritas (Sukorini et al. 2010)

Sampel simulasi yang telah di destruksi di ambil 500 μ L, ditambahkan larutan standar timbal konsentrasi 2, 6, 12, 18, 24, 30 ppm sebanyak 500 μ L, kemudian ditambahkan buffer asetat pH stabilitasnya sebanyak 2 mL dan alizarin sulfonat 1 mL, diamkan selama operating time nya dan dibaca absorbansinya pada panjang gelombang maksimum sehingga diperoleh persamaan, koefisien korelasi (r), dan koefisien variasi regresi fungsi ($V \times 0$).

Akurasi

Sampel simulasi yang telah dispiked 20 ppm diambil sebanyak 500 μ L, kemudian ditambahkan buffer asetat pH 5 sebanyak 2 mL dan alizarin sulfonat 1 mL, diamkan selama operating timenya. Dibuat pengulangan sebanyak tiga kali. Absorbansi masing-masing konsentrasi dibaca pada panjang gelombang maksimum dan dihitung persen perolehan kembali (% recovery).

Presisi

Sampel simulasi yang telah dispiked 20 ppm diambil sebanyak 500 μ L, kemudian ditambahkan buffer asetat dengan pH stabilitasnya sebanyak 2 mL dan alizarin sulfonat 1 mL, diamkan selama operating time nya. Keterulangan metode analisis dinyatakan sebagai Standar Deviasi (SD) dan Koefisien Variasi (KV).

Pengukuran Kadar Pb(II) pada Sampel Perona Mata

Sampel yang digunakan merupakan perona mata lokal teregistrasi BPOM yang beredar di toko online. Metode yang digunakan adalah metode yang telah divalidasi. Masing-masing konsentrasi diambil

sebanyak 500 μ L, kemudian ditambahkan buffer asetat dengan pH stabilitasnya sebanyak 2 mL dan alizarin sulfonat 1 mL, diamkan selama operating timenya. Absorban sampel diukur dengan spektrofotometer visible pada panjang gelombang maksimal. Kemudian dibuat kurva hubungan antara konsentrasi terhadap absorbansi. Dilakukan perhitungan terhadap kadar timbal pada perona mata.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dalam pembuatan sampel simulasi Perona mata dan pensil alis dibuat berdasarkan formularium kosmetika Indonesia disesuaikan berdasarkan produk lokal yang dipakai untuk pengujian yaitu sampel kosmetik dengan merek lokal yang sudah teregistrasi BPOM yang beredar di toko online. Pada proses pembuatan sampel simulasi menggunakan bahan-bahan yang umum dipakai dalam pembuatan kosmetik lokal sehingga dapat digunakan sebagai sampel simulasi pada validasi sebelum dilakukan pengujian terhadap sampel pasaran yang beredar di toko online.

Pemisahan analit (timbal) dari senyawa-senyawa organik dalam sampel spiked perona mata dengan cara destruksi kering. Proses destruksi merupakan tahapan preparasi sampel untuk mendapatkan logam timbal yang terkandung didalam sampel dengan memutus ikatan unsur logam dengan komponen lain yang terdapat didalam sampel sehingga logam tersebut berada pada keadaan bebas. Destruksi dilakukan pemanasan dengan suhu tinggi sehingga terjadi perombakan logam timbal yang tidak mudah menguap menjadi bentuk oksidasinya untuk selanjutnya dilarutkan dalam pelarut asam untuk mengikat logam timbal tersebut.

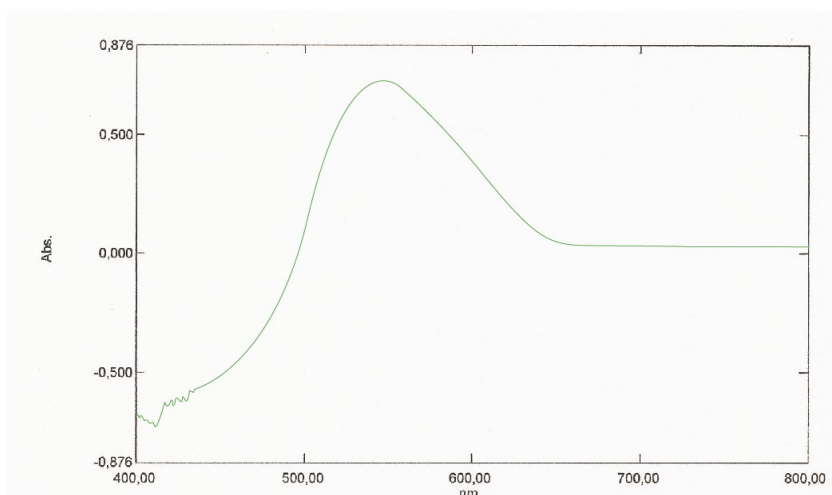
Sebelum pemeriksaan Pb sebagai analit dilakukan uji kualitatif untuk mengetahui ion logam Pb yang terdapat dalam sampel yang bisa bereaksi dengan alizarin sulfonat (Tabel 1). Pada uji pendahuluan dilakukan uji kualitatif terhadap ion Pb, menurut penelitian Aldinomera dkk. (2014) alizarin sulfonat bisa bereaksi dengan Pb. Uji kualitatif ion timbal menggunakan KCN serta K_2CrO_4 dan menggunakan larutan Pb asetat. Hasilnya yaitu pada larutan Pb asetat terbentuk endapan putih sianida dan terbentuk endapan kuning timbal kromat, sampel terbentuk endapan putih dan endapan kuning.

Penentuan panjang gelombang maksimum dari larutan timbal (Pb) pada sampel simulasi yang diderivatisasi dengan alizarin sulfonat pada suasana asam pH 5 menghasilkan larutan warna jingga. Panjang gelombang maksimum yang dihasilkan yaitu 546 nm (Gambar 1). Penentuan panjang gelombang maksimum merupakan dasar untuk analisis kualitatif dan kuantitatif dalam metode spektrofotometri visible.

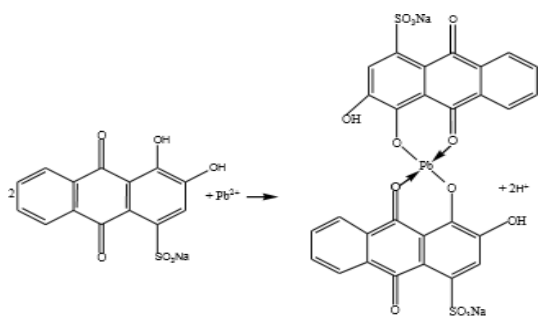
Kompleks Pb-Alizarin sulfonat (Gambar 2) terjadi karena alizarin sulfonat memiliki pasangan elektron bebas pada atom O yang mendonorkan

Tabel 1. Tabel Hasil Uji Kualitatif Sampel

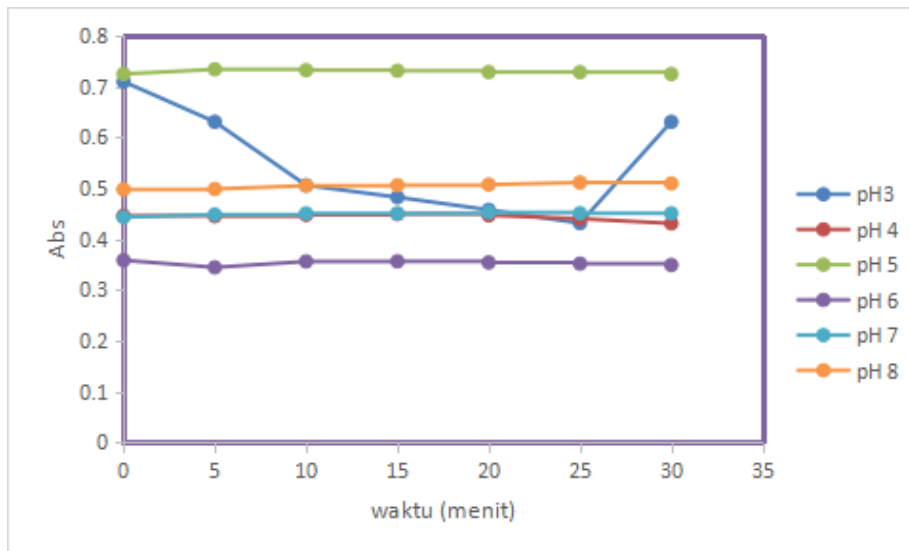
Sampel	Reaksi	Hasil
Sampel	$Pb^{2+}(aq) + 2CN^{-}(aq) \rightarrow Pb(CN)_2(s)$	Endapan putih
Simulasi	$Pb^{2+}(aq) + CrO_4^{2-}(aq) \rightarrow PbCrO_4(s)$	Endapan kuning
Sampel A (perona mata)	$Pb^{2+}(aq) + 2CN^{-}(aq) \rightarrow Pb(CN)_2(s)$ $Pb^{2+}(aq) + CrO_4^{2-}(aq) \rightarrow PbCrO_4(s)$	Endapan putih Endapan kuning
Sampel B (perona mata)	$Pb^{2+}(aq) + 2CN^{-}(aq) \rightarrow Pb(CN)_2(s)$ $Pb^{2+}(aq) + CrO_4^{2-}(aq) \rightarrow PbCrO_4(s)$	Endapan putih Endapan kuning
Sampel C (perona mata)	$Pb^{2+}(aq) + 2CN^{-}(aq) \rightarrow Pb(CN)_2(s)$ $Pb^{2+}(aq) + CrO_4^{2-}(aq) \rightarrow PbCrO_4(s)$	Endapan putih Endapan kuning
Sampel A (pensil alis)	$Pb^{2+}(aq) + 2CN^{-}(aq) \rightarrow Pb(CN)_2(s)$ $Pb^{2+}(aq) + CrO_4^{2-}(aq) \rightarrow PbCrO_4(s)$	Endapan putih Endapan kuning
Sampel B (pensil alis)	$Pb^{2+}(aq) + 2CN^{-}(aq) \rightarrow Pb(CN)_2(s)$ $Pb^{2+}(aq) + CrO_4^{2-}(aq) \rightarrow PbCrO_4(s)$	Endapan putih Endapan kuning
Sampel C (pensil alis)	$Pb^{2+}(aq) + 2CN^{-}(aq) \rightarrow Pb(CN)_2(s)$ $Pb^{2+}(aq) + CrO_4^{2-}(aq) \rightarrow PbCrO_4(s)$	Endapan putih Endapan kuning

**Gambar 1.** Spektrum Visible Kompleks Pb-Alizarin Sulfonat

pasangan elektronnya sehingga akan berikatan secara kovalen koordinasi dengan logam Pb. Kompleks ini memiliki gugus kromofor (gugus yang memiliki ikatan rangkap terkonjugasi), dan gugus ausokrom sehingga kompleks ini bisa dianalisis menggunakan metode spektrofotometri Visible.

**Gambar 2.** Komplek Pb Alizarin Sulfonat (Alsamarrai 2011)

Stabilitas pH ini dilakukan untuk menentukan operating time. Stabilitas pH dilihat dari kurva hubungan antara absorbansi terhadap waktu pada berbagai kondisi pH yaitu 3, 4, dan 5. Digunakan kondisi pH 3, 4, dan 5 karena kompleks Pb-alizarin sulfonat stabil pada pH asam dan pada pH > 7 akan terbentuk endapan merah $Pb(OH)_4^{-}$ (Pohling 2015). Pengukuran dilakukan setiap 5 menit, berdasarkan kurva hubungan absorbansi terhadap waktu diperoleh kondisi yang stabil yaitu pH 5 pada menit ke 19 sampai 24 (Gambar 3). pH optimum ini berbeda dengan penelitian sebelumnya yang menggunakan pH 4 sebagai kondisi untuk analisis kosmetik lip-tint (Wardani dkk. 2020). Alizarin sulfonat mampu membentuk kompleks dengan ion Pb^{2+} pada pH stabilitas yang berbeda-beda. Penentuan stabilitas pH dan operating time ini bertujuan untuk mengetahui kondisi pH kompleks yang stabil dan mengetahui



Gambar 3. Grafik Stabilitas Kompleks dalam Berbagai pH

waktu pengukuran yang stabil dimana dihasilkan absorbansi yang stabil dalam rentang waktu tertentu.

Kurva kalibrasi dibuat dengan cara pengukuran serapan dengan rentang konsentrasi 2; 6; 12; 18; 24; dan 30 ppm. Metode spiked dipilih karena kadar analit dalam sampel sangat kecil, sehingga dapat meningkatkan sensitivitas dalam pengukuran dengan adanya penambahan konsentrasi larutan standar. Linearitas suatu metode analisis diperoleh dengan membuat lima konsentrasi yang berbeda dari standar timbal sehingga dapat menggambarkan hubungan antara konsentrasi terhadap absorbansinya. Meningkatnya konsentrasi larutan standar akan menghasilkan absorbansi yang semakin besar pula (Dewi 2012). Linieritas dilakukan dengan membuat sampel simulasi metode spiked dari larutan standar timbal (Pb). Uji linieritas dilakukan untuk membuktikan adanya hubungan linier antara konsentrasi analit dengan respon instrument yang akan memberikan respon berupa absorbansi yang berbeda sesuai dengan konsentrasi larutan analit yang ditambahkan. Respon analit ini akan berbanding lurus dengan konsentrasi. Berdasarkan hasil pengujian linieritas pada sampel Perona mata diperoleh persamaan garis regresi $y = bx \pm a$ dengan koefisien korelasi (R^2) yaitu 0,9987. Nilai koefisien korelasi yang dihasilkan dari persamaan tersebut mendekati angka 1 menunjukkan linieritas yang baik (Harmita, 2004).

Hasil variasi konsentrasi pada uji linieritas pada sampel pensil alis, menghasilkan persamaan regresi linier $y = 0,0163x + 0,1836$ dengan nilai koefisien korelasi (R^2) yaitu 0,9989. Sedangkan untuk sampel perona mata adalah $y = 0,0079x + 0,285$ dengan $R^2 = 0,9987$. Metode analisis ini memenuhi syarat linieritas, yang mana dapat diterima karena lebih besar dari 0,9950 (Feldsine *et al.* 2002). Hal ini menunjukkan bahwa metode analisis ini

menghasilkan garis linier yang baik. Limit Deteksi (LOD) untuk pensil alis adalah 1,09 ppm sedangkan untuk perona mata adalah 1,16 ppm. Limit Kuantifikasi (LOQ) untuk pensil alis adalah 3,65 ppm sedangkan untuk perona mata yaitu 3,87 ppm.

Tabel 2. Tabel data akurasi sampel perona mata

C Spike (ppm)	Abs	C Terukur	% Recovery
10	0,2947	9,4041	94,041%
10	0,2942	9,3504	93,504%
10	0,2938	9,3077	93,077%
20	0,3918	19,4588	97,294%
20	0,3942	19,7085	98,5425%
20	0,3976	20,0593	100,2965%
30	0,4868	29,3017	97,6723%
30	0,4845	29,0583	96,861%
30	0,4826	28,8655	96,2183%

Tabel 3. Tabel data akurasi sampel pensil alis

C Spike (ppm)	Abs	C Terukur	% Recovery
10	0,2963	9,5685	95,685%
10	0,2974	9,6388	96,388%
10	0,2957	9,5116	95,116%
20	0,3908	19,3545	96,7725%
20	0,3915	19,4272	97,136%
20	0,3944	19,7306	98,653%
30	0,4778	28,3645	94,5483%
30	0,4805	28,6427	95,4756%
30	0,4826	28,8687	96,229%

Data akurasi (Tabel 2 dan Tabel 3) menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Akurasi dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (% recovery). Akurasi dilakukan dengan tiga konsentrasi berbeda yaitu 10, 20 dan 30 ppm. Hasil perolehan kembali (% recovery) dengan konsentrasi tersebut memenuhi syarat. Syarat persen perolehan kembali yang diperbolehkan yaitu 80%-110% (Harmita 2004).

Tabel 4. Tabel data presisi sampel perona mata

C Spike (ppm)	Abs	RSD
10	0,2947	
10	0,2942	0,5
10	0,2938	
20	0,3918	
20	0,3942	1,5
20	0,3976	
30	0,4868	
30	0,4845	0,7
30	0,4826	

Tabel 5. Tabel data presisi sampel pensil alis

C Spike (ppm)	Abs	RSD
10	0,2963	
10	0,2974	0,9
10	0,2957	
20	0,3908	
20	0,3915	1,02
20	0,3944	
30	0,4778	
30	0,4805	0,8
30	0,4826	

Data presisi (Tabel 4 dan Tabel 5) menunjukkan ukuran derajat kesesuaian antara individual dari rata-rata jika prosedur digunakan secara berulang pada sampel yang diambil dari campuran yang homogen. Presisi diukur sebagai standar deviasi (SD) dan koefisien variasi (KV). Dalam penelitian ini menetapkan keterulangan metode sebagai parameter presisinya. Keterulangan merupakan keseksamaan metode jika dilakukan berulang kali oleh analis yang sama pada kondisi yang sama dan interval waktu yang pendek (Harmita 2004) Hasil koefisien variasi yang diperoleh yaitu tidak lebih dari 2%, sehingga nilai presisi telah memenuhi syarat parameter validasi. Dimana nilai presisi yang didapat memenuhi kriteria batas penerimaan KV Horwitz yaitu $\leq 16\%$. Semakin kecil nilai KV (%) semakin teliti metode tersebut dan sebaliknya (Sukorini et al. 2010).

Tabel 6. Data hasil pengukuran sampel perona mata

Sampel	Abs	% Kadar	C Sampel (ppm)	C rata-rata (ppm)
A	0,3566	0,0398%	3,98	4,00
	0,3571	0,0399%	3,99	
	0,3588	0,0403%	4,03	
B	0,2114	0,0019%	0,19	0,22
	0,2142	0,0026%	0,26	
	0,2120	0,0021%	0,21	
C	0,3707	0,0434%	4,34	4,31
	0,3717	0,0437%	4,37	
	0,3665	0,0423%	4,23	

Tabel 7. Data hasil pengukuran sampel pensil alis

Sampel	Abs	% Kadar	C Sampel (ppm)	C rata-rata (ppm)
A	0,4048	0,05198%	20,92	20,8
	0,4035	0,05197%	20,79	
	0,4025	0,0393%	20,68	
B	0,2935	0,02332%	9,33	8,92
	0,2880	0,02189%	8,76	
	0,2873	0,0217%	8,68	
C	0,2198	0,00414%	1,65	1,63
	0,2199	0,00416%	1,67	
	0,2190	0,00393%	1,57	

Penetapan kadar timbal dilakukan terhadap sampel kosmetik lokal terregistrasi BPOM. Metode yang digunakan adalah metode yang telah divalidasi dimana dilakukan spiked dengan konsentrasi 2 ppm, 6 ppm, 12 ppm, 18 ppm, 24 ppm, 30 ppm dan selanjutnya diperlakukan sama persis dengan sampel simulasi. Hasilnya didapat kurva hubungan antara konsentrasi terhadap absorbansi dan persamaan regresi linier yang digunakan dalam perhitungan kadar timbal (Pb) dalam kosmetik perona mata dan pensil alis.

Pengukuran kadar timbal (Pb) sampel yaitu diperoleh persamaan $y = bx \pm a$. Hasil analisis sampel ditunjukkan pada Tabel 6 dan Tabel 7. Kadar timbal (Pb) pada sampel perona mata yaitu Sampel A 4,00 ppm, Sampel B 0,22 ppm dan Sampel C 4,31 ppm. Pada sampel pensil alis sebesar pada Sampel A 20,8 ppm, Sampel B 8,92 ppm, dan Sampel C 1,63 ppm. Menurut Peraturan Kepala Badan POM Nomor 17 Tahun 2014 Tentang Perubahan Atas Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor HK.03.1.23.07.11.6662 Tahun 2011 Tentang Persyaratan Cemarannya Mikroba dan Logam Berat dalam Kosmetika. Peraturan tersebut dijelaskan bahwa persyaratan cemaran logam berat dalam kosmetika untuk Timah Hitam (Pb), tidak boleh lebih dari 20 mg/kg atau 20 mg/L (20 ppm), maka beberapa sampel memiliki kadar timbal sesuai nilai batas maksimal cemaran timbal.

Kadar logam timbal yang besar merupakan timbal yang terkandung dalam sampel kosmetik, baik dari cemaran kemasan, ataupun kandungan pigmen yang

terandung. Dari hasil pengukuran tersebut kadar sampel yang berada di atas batas kuantitasi, sehingga metode Spektrofotometri Visibel ini dapat digunakan untuk menganalisis kadar timbal dalam perona mata serta pensil alis.

KESIMPULAN

Metode analisis kadar timbal (Pb) dalam pensil alis dan perona mata menggunakan metode spektrofotometri visibel, berdasarkan pembentukan kompleks Pb-alizarin sulfonat pada pH 5 dapat digunakan sebagai metode alternatif untuk analisis Pb dalam kosmetik.

Hasil penetapan kadar pada sampel perona mata yang diperbolehkan yaitu semuanya memenuhi syarat BPOM. Pada hasil penetapan dengan sampel pensil alis diperoleh 1 dari 3 sampel mengandung logam timbal melebihi persyaratan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada LemLitbang UHAMKA atas dana hibah untuk penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

Aldinomera, R., Destiarti, L. & Ardiningsih, P. (2014). Penetapan kadar timbal (II) pada air sungai Kapuas secara spektrofotometri ultra violet-visibel. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*. **3(1)**: 1–6.

Alsamarrai, K.F. (2011). Spectrophotometric assay of lead in human hair samples by using alizarin red (S) in Samarra area, *Journal of University of Anbar for Pure Science*. **5(3)**: 3–10.

Arifiyana, D. & Ferry, H. (2018). Analisis kualitatif dan kuantitatif cemaran logam berat timbal (Pb) dan kadmium (Cd) pada produk kosmetik pensil alis menggunakan spektrofotometer serapan atom (SSA). *Journal of Research and Technology*. **4(1)**: 55–62.

Arshad, H., Mehmood, M.Z., Shah, M.H. & Abbasi, A.M. (2020). Evaluation of heavy metals in cosmetic products and their health risk assessment. *Saudi Pharmaceutical Journal*. **28(7)**: 779-790.

Arwiedya, M.R. (2011). Analisis pengaruh harga, jenis media promosi, resiko kinerja, dan keragaman produk terhadap keputusan pembelian via internet pada toko online. Skripsi. Fakultas Ekonomi. Universitas Diponegoro. Semarang.

Dewi, D.C. (2012). Determinasi kadar logam timbal (Pb) dalam makanan kaleng menggunakan destruksi basah dan destruksi kering. *Alchemy*. **2(1)**: 12–25.

Novebry, U.D.T., Apridamayanti, P. & Desnita, R. (2015). Analisis logam timbal dalam eye-liner pencil yang beredar di kota Pontianak. *Jurnal Cerebellum*. **1(1)**: pp. 47–59.

Amalullia, D. (2016). Analisis kadar timbal (Pb) pada eyeshadow dengan variasi zat pengoksidasi dan metode destruksi basah menggunakan

spektroskopi serapan atom (SSA). Skripsi. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.

Erasiska, Bali, S. & Hanifah, T.A. (2015). Analisis kandungan logam timbal, kadmium dan merkuri dalam produk krim pemutih wajah. *JOM FMIPA*. **2(1)**: 123–129.

Fatmawati, F. (2019). Meningkatkan pemahaman masyarakat dalam sosialisasi bahaya cemaran logam berat pada kosmetik. *DIMAS*. **19(1)**: 73–84.

Feldsine, P., Abeyta, C. & Andrews, W.H. (2002). AOAC International methods committee guidelines for validation of qualitative and quantitative food microbiological official methods of analysis. *Journal of AOAC International*. **85(5)**: 1187-1200.

Gandjar, I.G & Rohman, A. (2009) *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Pelajar. Yogyakarta.

Harmita, H. (2004). Petunjuk pelaksanaan validasi metode dan cara perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. **1(3)**: 117–135.

Jaya, F., Guntarti, A. & Kamal, Z. (2013). Penetapan kadar Pb pada shampoo berbagai merk dengan metode spektrofotometri serapan atom. *Pharmaciana*, **3(2)**: 9–13.

Li, G., Schoneker, D., Ulman, K.L., Sturm, J.J., Thackery, L.M. & Kauffman, J.F. (2015). Elemental impurities in pharmaceutical excipients. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. **104(12)**: 4197-4206.

Mamoto, L.V. & Citraningtyas, F.G. (2013). Analisis rhodamin b pada lipstik yang beredar di pasar kota Manado. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. **2(2)**: 61-67.

Pohling, R. (2015). *Chemische Reaktionen in der Wasseranalyse*. Springer-Verlag. Berlin.

Rajni, R. & Usha, G. (2012). Mean centering of ratio spectra as a new spectrophotometric method for the analysis of binary mixtures of vanadium and lead in water samples and alloys. *Research Journal of Chemical Sciences*. **2(9)**: 22-29.

Riyanto (2014). *Validasi dan Verifikasi Metode Uji*. Deepublish. Yogyakarta.

Sukorini, U., Nugroho, D.K., Rizki, M. & Hendrawan, P.J.B. (2010). *Pemantapan Mutu Internal Laboratorium Klinik*. Kanamedika dan Alfamedia. Yogyakarta.

Tchounwou, P.B., Yedjou, C.G., Patlolla, A.K. & Sutton, D.J. (2012). Molecular, clinical and environmental toxicology volume 3: environmental toxicology. *Mol Clin Environ Toxicol* 101: 133–164.

Wardani, G.A., Abiya, S.L. & Setiawan, F. (2020). Analysis of the lead on lip tint cosmetics on the market using UV-Vis spectrophotometry method. *EduChemia (Jurnal Kimia dan Pendidikan)*. **5(1)**: 87-100.

Wasitaatmmadja, S.M. (1997). *Penuntun Ilmu Kosmetik Medik*. UI Press. Jakarta.



UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA
FAKULTAS FARMASI DAN SAINS

Jl. Limau II, Kebayoran Baru, Jakarta 12130 Tel. (021) 7208177, 722886, Fax. (021) 7261226, 7256620
Islamic Centre, Jl. Delima II/IV, Klender, Jakarta Timur Tlp.: (021) 8611070, Fax. (021) 86603233
Website: www.ffi-uhamka.ac.id; E-mail: ffi@uhamka.ac.id

SURAT TUGAS
MELAKUKAN KEGIATAN PENELITIAN DAN PUBLIKASI

NO. 894/F.03.08/2021

Bismillahirrohmanirrohiim,

Yang bertanda tangan di bawah ini

N a m a	Dr. apt. Hadi Sunaryo, M.Si.
NIDN	0325067201
Pangkat /Jabatan Akademik	Penata Tk. I, IIIId/ Lektor Kepala
Jabatan	Dekan
Unit Kerja	Fakultas Farmasi dan Sains UHAMKA Jakarta

Memberikan tugas Penelitian dan Publikasi pada **tahun akademik 2020/2021** kepada:

N a m a	Sofia Fatmawati, M.Si., Apt
NID/NIDN	D.18.1309/ 0624038901
Pangkat /Jabatan Akademik	Penata Muda Tk. I/ III-B
Jabatan Fungsional	Asisten Ahli
Unit Kerja	Fakultas Farmasi dan Sains UHAMKA Jakarta

Untuk Melaksanakan Penelitian dan Publikasi sebagai berikut:

NO	JUDUL PENELITIAN DAN PUBLIKASI
1.	Pengaruh Variasi Metode Ekstraksi Terhadap Perolehan Senyawa Antioksidan Pada Daun Katuk (<i>Sauropus androgynus</i> (L.) Merr)

Demikian surat tugas ini diberikan kepada yang bersangkutan untuk dilaksanakan dengan penuh amanah dan tanggung jawab

Jakarta, 06 Maret 2021

Dekan,



Dr. apt. Hadi Sunaryo, M.Si.

Tembusan Yth:

1. Rektor UHAMKA Jakarta
2. Wakil Rektor I dan II UHAMKA Jakarta
3. Arsip



Pengaruh Variasi Metode Ekstraksi Terhadap Perolehan Senyawa Antioksidan Pada Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr)

Ni Putu Ermi Hikmawanti^{1*}, Sofia Fatmawati, Zainal Arifin¹, dan Vindianita¹

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi dan Sains, Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA, Jalan Delima II/IV Jakarta Timur, Indonesia 13460.

E-mail: ermy0907@uhamka.ac.id

Riwayat artikel: Dikirim: 25/11/2020; Diterima: 30/12/2020, Diterbitkan: 1/07/2021

ABSTRACT

S. androgynus (Phyllanthaceae) contains natural antioxidant compounds such as phenolics and flavonoid derivatives. The successful to obtain the plant metabolite compounds depends on the extraction method. This study aims to determine the total phenolics and flavonoids content of the ethanolic extract of *S. androgynus* leaves obtained from three types of extraction methods, namely maceration, Soxhletation, and ultrasonic. Determination of total phenolics and flavonoids content was carried out by colorimetric method using Folin-ciocalteu and AlCl_3 10% reagents, respectively. The absorbance of the reaction was measured using a UV-Vis spectrophotometer. Total phenolics content is expressed as equivalent to gallic acid, while total flavonoid content is expressed as equivalent to quercetin. Determination of the extract's antioxidant activity was carried out against DPPH free radical and expressed by the IC_{50} (ppm) value. The results showed that the ultrasonic extraction method produced the best levels of phenolics (42.96 ± 0.51 mgGAE/g), flavonoids (12.05 ± 0.36 mgQE/g) and antioxidant activity ($\text{IC}_{50} = 81.43 \pm 2.63$ ppm) in ethanolic extract of *S. androgynus* leaves compared to another extraction method (maceration > Soxhletation). Thus, it can be concluded that the ultrasonic extraction method is an efficient and effective extraction method to produce high antioxidant compounds in ethanolic extract of *S. androgynus* leaves.

Keywords: Antioxidant, Extraction, Flavonoids, Phenolics, *S. androgynus*, Ultrasonic

ABSTRAK

S. androgynus (Phyllanthaceae) mengandung senyawa antioksidan alami seperti fenolik dan turunannya flavonoid. Keberhasilan memperoleh senyawa metabolit tanaman bergantung pada metode ekstraksi. Penelitian ini bertujuan menentukan kadar fenolik dan flavonoid dari ekstrak etanolik daun katuk yang diperoleh dari tiga jenis metode ekstraksi yaitu maserasi, Soxhletasi, dan ultrasonik. Penentuan kadar senyawa fenolik dan flavonoid dilakukan dengan metode kolorimetri masing-masing secara berurutan menggunakan reagen Folin-ciocalteu dan AlCl_3 10%. Absorbansi hasil reaksi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Kadar fenolik total dinyatakan sebagai kesetaraannya dengan asam galat, sedangkan kadar flavonoid dinyatakan sebagai kesetaraannya dengan kuersetin. Penentuan aktivitas antioksidan ekstrak dilakukan terhadap radikal DPPH dan dinyatakan dengan nilai IC_{50} (ppm). Hasil menunjukkan bahwa metode ekstraksi ultrasonik menghasilkan kadar fenolik ($42,96 \pm 0,51$ mgGAE/g), flavonoid ($12,05 \pm 0,36$ mgQE/g) total dan aktivitas antioksidan ($\text{IC}_{50} = 81,43 \pm 2,63$ ppm) paling baik pada ekstrak etanolik daun *S. androgynus* dibanding dengan metode ekstraksi lain (maserasi > Soxhletasi). Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa metode ekstraksi ultrasonik merupakan metode ekstraksi yang efisien dan efektif untuk menghasilkan senyawa antioksidan yang tinggi pada ekstrak etanolik daun *S. androgynus*.

Kata kunci: Antioksidan, Ekstraksi, Fenolik, Flavonoid, *S. androgynus*, Ultrasonik



1. PENDAHULUAN

Antioksidan merupakan bahan yang digunakan dalam konsentrasi kecil untuk menghambat dan/atau mengurangi oksidasi yang disebabkan oleh suatu oksidan. Salah satunya dengan cara bereaksi dengan radikal melalui donor elektron ataupun hidrogen dan mengubahnya menjadi suatu produk yang lebih stabil (Moharram & Youssef, 2014). Tanaman merupakan salah satu sumber bahan alam dengan potensi antioksidan alami seperti senyawa fenolik seperti asam fenolat (asam ferulat, asam galat, asam elagat), flavonoid (kuersetin, katekin, hesperidin), tanin, antosianin, liginin; karotenoid (beta-karoten, likopen, lutein); vitamin (vitamin A, C, E) dan sebagainya (Moharram & Youssef, 2014; Altemimi et al., 2017). Sumber antioksidan dapat diperoleh dari sayuran hijau, salah satunya *Sauropus androgynus* (L.) Merr. Tanaman ini, di Indonesia, dikenal dengan istilah katuk. Secara empiris, *S. androgynus* telah lama digunakan untuk antipiretik, pelancar air susu ibu (ASI), dan lain sebagainya (Petrus, 2013). Kapasitas antioksidan daun *S. androgynus* yang berkaitan dengan beragam aktivitas farmakologinya juga telah dilaporkan seperti antimikroba, sitotoksik terhadap sel kanker, antiinflamasi dan penyembuhan luka (Petrus, 2013; Khoo et al., 2015). *S. androgynus* juga dilaporkan memiliki aktivitas antiobesitas (Patonah et al., 2017), afrodisiaka (Andini, 2014; Rusdi et al., 2018) dan peningkat fertilitas pada tikus jantan (Hikmawanti et al., 2020). Aktivitas farmakologi *S. androgynus* tidak lepas dari metabolit sekunder yang terkandung didalamnya. Daun *S. androgynus* dilaporkan mengandung senyawa bioaktif seperti fenolik, tanin, flavonoid, antosianin, fitosterol, dan lain sebagainya (Petrus, 2013). Wijono (2004) melaporkan bahwa senyawa fenolik yang terdeteksi pada daun *S.*

androgynus yaitu asam fenolat, asam para hidroksi benzoat, asam ferulat, asam kafeat dan asam vanilat. (Djamil & Zaidan, 2016) melaporkan bahwa ekstrak metanol daun *S. androgynus* mengandung senyawa flavonoid dalam bentuk flavonol dan flavon. *S. androgynus* termasuk dalam kelompok sayuran dari Indonesia yang teridentifikasi sebagai sumber makanan yang berpotensi kaya akan flavonoid dan antioksidan (Andarwulan et al., 2010).

Ekstraksi adalah langkah awal yang menuntun pada proses isolasi metabolit sekunder tanaman setelah proses preparasi sampel (Khoddami et al. 2013; Stalikas, 2007). Pada proses ekstraksi dengan pelarut, ada dua hal yang penting yaitu waktu dan suhu. Idealnya, peningkatan waktu dan suhu meningkatkan kelarutan senyawa aktif dalam pelarutnya. Ada beberapa jenis ekstraksi metabolit tanaman. Ekstraksi dapat terbagi menjadi ekstraksi dingin (maserasi, perkolasi) dan ekstraksi panas (soxhletasi, refluks). Berdasarkan perkembangannya, ekstraksi terbagi menjadi ekstraksi konvensional (seperti maserasi, perkolasi, sokletasi) dan non konvensional (seperti ekstraksi yang dibantu ultrasonik, *microwave* dan lain sebagainya). Berdasarkan prosesnya, ekstraksi terbagi atas ekstraksi bertahap (seperti maserasi) dan ekstraksi berkesinambungan (seperti sokletasi dan refluks). Sampai dengan saat ini metode maserasi dan sokletasi merupakan metode klasik yang masih bertahan digunakan dalam produksi ekstrak yang mengandung senyawa bioaktif dari sampel bahan alam terutama tumbuhan obat (Azmir et al., 2013) meskipun telah hadir metode non konvensional yang mungkin menjanjikan proses yang lebih efisien dengan hasil yang efektif (Khoddami et al., 2013). Masing-masing metode ekstraksi memiliki keunggulan dan kekurangan. Kekurangan metode maserasi adalah waktu dan penggunaan pelarut yang lebih banyak dibanding metode Soxhletasi dan metode



ekstraksi yang dibantu ultrasonik. Selain itu, metode maserasi juga dianggap kurang efektif karena memiliki efisiensi yang rendah dalam ekstraksi fenolik dibanding metode konvensional lain (Khoddami et al., 2013). Meski demikian, ekstraksi dengan maserasi masih banyak digunakan karena relatif lebih aman untuk senyawa kimia yang bersifat termolabil dimana proses ekstraksi tidak menggunakan panas, dengan proses dan alat yang sederhana serta biaya yang relatif lebih murah (Azwanida, 2015). Sedangkan metode Soxhletasi cukup menggunakan pelarut organik dalam jumlah yang lebih sedikit jika dibanding dengan maserasi. Namun, metode soxhletasi memerlukan pelarut dengan tingkat kemurnian yang lebih tinggi sehingga relatif lebih banyak menghabiskan biaya. Selain itu, metode soxhletasi juga menggunakan panas yang mana tidak cocok untuk senyawa yang termolabil karena dapat menyebabkan degradasi senyawa (Pandey & Tripathi, 2014). Soxhletasi juga terbatas untuk simplisia kering dan halus dalam jumlah terbatas (Arceusz et al., 2013; Azwanida, 2015; Watson, 2019). Penggunaan metode ekstraksi dengan bantuan ultrasonik dirasa suatu alternatif untuk memberikan solusi dari kekurangan metode maserasi maupun sokletasi untuk menarik senyawa fenolik dan flavonoid (Khoddami et al., 2013).

Proses produksi ekstrak sebagai bahan baku dengan mutu yang baik perlu mempertimbangkan pemilihan metode ekstraksi yang tepat. Melalui penelitian ini dapat diketahui metode ekstraksi yang paling efisien dan efektif dalam menarik senyawa antioksidan berupa fenolik dan flavonoid dari daun *S. androgynus*.

2. BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Daun *S. androgynus* segar diperoleh dari dan dideterminasi di Unit Konservasi Budidaya Biofarmaka (UKBB), Pusat Studi Biofarmaka Tropika LPPM IPB, Bogor, Jawa Barat,

Indonesia. Etanol (Merck, Darmstadt, Jerman) sebagai pelarut pengestraksi. Asam galat dan kuersetin sebagai standar, serta DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl) (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, USA).

Alat-alat penting yang digunakan meliputi: seperangkat alat maserasi, seperangkat alat Soxhletasi, seperangkat alat Ultrasonik Cleaner model 14H (Dentsply Neytech, Burlington, USA), *Vacuum Rotary Evaporator* seri N-1200 BS (EYELA, Shanghai, Cina), Moisture Analyzer (Mettler Toledo, Switzerland) dan Spektrofotometer UV-Vis Seri UV-1601 (Shimadzu, Kyoto, Jepang).

Metode

Pembuatan simplisia daun *S. androgynus*

Daun *S. androgynus* segar disortasi basah dan kemudian dicuci sampai bersih. Daun yang telah ditiriskan kemudian dikering-anginkan terlindung dari cahaya matahari langsung pada suhu ruang selama \pm 3-5 hari. Daun yang telah kering kemudian ditumbuk menggunakan mortar. Simplisia kemudian disimpan dalam wadah kering tertutup baik.

Ekstraksi dengan Metode Maserasi

Ekstraksi daun *S. androgynus* kering (150,0 g) dilakukan dengan metode maserasi pada suhu ruang menggunakan pelarut etanol 70% mengikuti prosedur pada Farmakope Herbal Indonesia (Kementerian Kesehatan RI, 2008). Proses ekstraksi dilakukan selama 24 jam sambil sesekali diaduk. Filtrat dipisahkan dari residunya dengan menggunakan kertas saring Whatmann. Residunya diremaserasi kembali sebanyak 3 kali pengulangan dengan pelarut yang baru. Filtrat dikumpulkan dan dievaporasi menggunakan *vacuum rotary evaporator* pada 50 °C dan dilanjutkan menggunakan waterbath pada 50 °C hingga diperoleh ekstrak kental (Kementerian Kesehatan RI, 2008).

Ekstraksi dengan Metode Soxhletasi



Daun *S. androgynus* kering (150,0 g) diekstraksi dengan menggunakan seperangkat alat Soxhletasi yang telah dirangkai sebelumnya mengikuti prosedur pada Farmakope Herbal Indonesia. Serbuk daun dibungkus dengan kertas saring dan ditempatkan dalam *Thimble*. Pelarut etanol 70% dimasukkan ke dalam labu alas bulat yang didalamnya telah diisi dengan batu didih. Ekstraksi berlangsung selama 8 jam. Ekstrak etanol yang diperoleh diuapkan pelarutnya dengan menggunakan *vacuum rotary evaporator* pada 50 °C dan dilanjutkan dengan menggunakan waterbath pada 50 °C hingga diperoleh ekstrak kental (Kementerian Kesehatan RI, 2008).

Ekstraksi dengan Metode Ultrasonik

Daun *S. androgynus* (150,0 g) dalam gelas kimia diekstraksi dengan pelarut etanol 70% (1:10) b/v. Campuran tersebut dimasukkan ke dalam alat ultrasonik dengan frekuensi 50Hz suhu 40 °C selama 45 menit. Filtrat disaring dengan kertas saring terhadap residunya, kemudian diuapkan dengan menggunakan *vacuum rotary evaporator* pada 50 °C dan dilanjutkan dengan menggunakan waterbath pada 50 °C hingga diperoleh ekstrak kental.

Penentuan Sifat Fisiko-Kimia Ekstrak

Ekstrak etanol 70% daun *S. androgynus* ditetapkan parameter fisiko-kimianya meliputi organoleptis, persentase rendemen ekstrak, dan kadar abu total sesuai prosedur yang tertera pada Farmakope Herbal Indonesia (Kementerian Kesehatan RI, 2008). Penentuan kadar air dilakukan menggunakan alat *moisture balance analyzer*.

Identifikasi Kandungan Kimia secara Kualitatif

Skrining fitokimia dilakukan secara kualitatif menggunakan pereaksi deteksi berdasarkan prosedur yang tertera pada Hanani (2015) dan Farmakope Herbal Indonesia (Kementerian Kesehatan RI, 2008). Golongan senyawa yang

diidentifikasi pada ekstrak etanol 70% daun *S. androgynus* meliputi fenolik, flavonoid, tanin, saponin, alkaloid, steroid dan triterpenoid. Identifikasi fenolik menggunakan pereaksi FeCl_3 3%. Identifikasi flavonoid menggunakan serbuk Mg dan asam klorida pekat. Identifikasi tanin menggunakan pereaksi gelatin 10%. Identifikasi saponin dilakukan dengan uji buih. Identifikasi alkaloid menggunakan pereaksi Dragendorff, Mayer dan Bouchardat. Identifikasi steroid/triterpenoid menggunakan pereaksi asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat.

Penentuan Kadar Fenolik Total

Penentuan kadar senyawa fenolik total mengikuti prosedur Yang et al., (2007) dengan modifikasi menggunakan pereaksi Folin-Ciocalteu. Pembuatan kurva kalibrasi menggunakan larutan asam galat sebagai standar dengan rentang konsentrasi 18-66 ppm. Hubungan konsentrasi asam galat (x) dengan absorbansinya (y) diplot hingga menghasilkan persamaan garis linear ($y = bx \pm a$). Masing-masing ekstrak etanol daun *S. androgynus* 1000 ppm dalam etanol dipipet sebanyak 0,3 mL lalu ditambahkan 1,5 mL pereaksi Folin-Ciocalteu (yang telah diencerkan 1:10) dan dihomogenkan. Larutan diinkubasikan selama 3 menit, kemudian ditambahkan 1,2 mL larutan Na_2CO_3 7,5% dan dicukupkan dengan air sampai diperoleh volume total 10 mL. Campuran diinkubasi kembali selama 60 menit pada suhu kamar. Absorbansi larutan ekstrak diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang maksimum pada 756,5 nm di suhu ruang. Absorbansi yang diperoleh diplot ke dalam persamaan garis linear dan kemudian kadar fenolik total dihitung dengan rumus: kadar fenolik dalam larutan ($\mu\text{g/mL}$) dikali dengan faktor pengenceran dan volume larutan (mL) dan dibagi dengan bobot ekstrak (g). Kadar senyawa fenolik total dinyatakan dalam mg yang setara dengan asam galat per gram ekstrak. Pengujian tiap ekstrak dilakukan 5 kali



pengulangan dan dilaporkan dalam rata-rata \pm SD.

Penentuan Kadar Flavonoid Total

Penentuan kadar senyawa flavonoid total mengikuti prosedur pada Chang et al., (2002) dengan modifikasi. Standard yang digunakan adalah kuersetin. Larutan kuersetin dengan rentang konsentrasi 33-129 ppm digunakan untuk membuat kurva kalibrasi. Hubungan konsentrasi kuersetin (x) dengan absorbansinya (y) diplot hingga menghasilkan persamaan garis linear ($y = bx \pm a$). Masing-masing ekstrak etanol daun *S. androgynus* dalam metanol dipipet sebanyak 0,5 mL lalu ditambahkan 1,5 mL metanol dan ditambahkan pereaksi 0,1 mL $AlCl_3$ 10%, 0,1 mL natrium asetat 1M dan cukupkan dengan aquadest sampai 5 mL. Larutan diinkubasi selama 60 menit pada suhu kamar. Absorbansi larutan ekstrak diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 434 nm. Absorbansi yang diperoleh diplot ke dalam persamaan garis linear dan kemudian kadar flavonoid total dihitung dengan rumus: kadar flavonoid dalam larutan ($\mu g/mL$) dikali dengan faktor pengenceran dan volume larutan (mL) dan dibagi dengan bobot ekstrak (g). Kadar senyawa flavonoid total dinyatakan dalam mg yang setara dengan kuersetin per gram ekstrak. Pengujian tiap ekstrak dilakukan 5 kali pengulangan dan dilaporkan dalam rata-rata \pm SD.

Pengujian Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol 70% daun *S. androgynus* dilakukan dengan metode DPPH mengikuti prosedur (Wan et al., 2011) dengan modifikasi. Kuersetin digunakan sebagai pembanding. Ekstrak dilarutkan dalam metanol dan diencerkan menjadi 5 variasi konsentrasi, yaitu 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm. Larutan kuersetin dilarutkan dalam metanol dan diencerkan menjadi 2, 4, 6, 8, dan 10 ppm. Masing-masing variasi konsentrasi dari larutan ekstrak atau kuersetin dipipet 0,2 mL dan ditambahkan 1 mL DPPH 0,5 mM dalam

metanol. Larutan dicukupkan dengan methanol hingga volume total 5 mL. Campuran dalam tube yang dilapisi dengan kertas aluminium foil, diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang dengan kondisi gelap. Larutan blanko dibuat dari 1 mL DPPH yang dicampur dengan 4 mL methanol. Selanjutnya, serapan diukur pada panjang gelombang 515,5 nm. Tiap seri konsentrasi masing-masing sampel diuji triplo. Hasil dilaporkan dalam rata-rata \pm SD. Perhitungan persentase penghambatan radikal DPPH menggunakan rumus:

$$\text{Inhibition of DPPH (\%)} = \frac{A_b - A_s}{A_b} \times 100$$

dimana A_b merupakan absorbansi blanko dan A_s merupakan absorbansi sampel.

Analisis data

Data dianalisis menggunakan analisis multivariat untuk mengetahui pengaruh metode ekstraksi terhadap perolehan kadar fenolik, flavonoid dan aktivitas antioksidan ($\alpha = 0,05$). Hubungan antara variable kadar fenolik, flavonoid serta antioksidan dianalisis dengan menggunakan uji Korelasi (Pearson test). Pengaruh dari hubungan tersebut selanjutnya dianalisis dengan menggunakan regresi berganda ($\alpha = 0,05$).

3. HASIL

Hasil penentuan fisiko-kimia ekstrak etanol 70% daun *S. androgynus* dari variasi metode ekstraksi dapat dilihat pada **Tabel 1**. Berdasarkan hasil pada **Tabel 1.**, persentase rendemen ekstrak terhadap simplisia yang diekstraksi paling tinggi ditemukan pada ekstrak yang dihasilkan dari metode ultrasonik yaitu sebesar 36,29% (Ultrasonik > Maserasi > Soxhletasi).

Berdasarkan hasil pada **Tabel 1.**, kadar abu yang dihasilkan oleh semua ekstrak adalah sekitar 6,22-6,76%. Kadar abu ditetapkan untuk memberikan gambaran kandungan mineral yang berasal dari tanaman ataupun dari luar



tanaman (Departemen Kesehatan RI, 2000). Nilai kadar air masing-masing ekstrak diperoleh sebesar 2,08-2,89%. Persentase kadar air ditetapkan untuk memberikan gambaran batas maksimal banyaknya air yang terkandung dalam ekstrak terutama untuk bahan yang menyerap kelembaban dengan cepat. Keberadaan air dalam bahan yang tinggi menjadikannya tempat tumbuh yang baik untuk mikroba (World Health Organization, 1998).

Penentuan menggunakan *moisture analyzer* merupakan cara yang efisien untuk pengukuran dengan jumlah sampel yang cukup banyak dalam waktu analisis yang singkat.

Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol 70% daun *S. androgynus* pada **Tabel 2.**, menunjukkan keberadaan senyawa alkaloid, fenolik, flavonoid, tanin, saponin, dan steroid.

Tabel 1. Karakteristik fisiko-kimia ekstrak etanol 70% daun *S. androgynus* dari tiga metode ekstraksi yang berbeda

Karakteristik Fisiko-Kimia	Metode Ekstraksi		
	Maserasi	Soxhletasi	Ultrasonik
Organoleptis			
- Warna	Coklat kehitaman	Coklat kehitaman	Hijau kecoklatan
- Bentuk	Ekstrak kental	Ekstrak kental	Ekstrak kental
- Bau	Khas	Khas	Khas
- Rasa	Agak pahit	Agak pahit	Agak pahit
Rendemen Ekstrak (% , b/b) ± SD	35,34 ± 3,09	24,96 ± 1,34	36,29 ± 3,56
Kadar Abu Total (% , b/b) ± SD	6,76 ± 0,79	6,52 ± 0,83	6,22 ± 1,85
Kadar Air (% , b/b) ± SD	2,08 ± 0,65	2,89 ± 0,56	4,42 ± 0,88

Tabel 2. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol 70% daun *S. androgynus* yang diekstraksi dengan tiga metode ekstraksi yang berbeda

Metode Ekstraksi	Senyawa Kimia yang Diidentifikasi						
	Alkaloid	Flavonoid	Fenolik	Saponin	Tanin	Terpenoid	Steroid
Maserasi	+	+	+	+	+	-	+
Soxhletasi	+	+	+	+	+	-	+
Ultrasonik	+	+	+	+	+	-	+

Rentang konsentrasi asam galat yang digunakan pada penentuan kurva baku asam galat adalah 18-66 ppm. Kurva Kalibrasi Asam Galat menghasilkan persamaan garis linear $y = 0,0093x + 0,1824$ dengan nilai $r = 0,99$. Sedangkan, rentang konsentrasi penentuan kurva baku kuersetin adalah 33-129 ppm. Kurva Kalibrasi Asam Galat menghasilkan persamaan garis linear $y = 0,0042x + 0,1897$ dengan nilai $r = 0,99$. Nilai

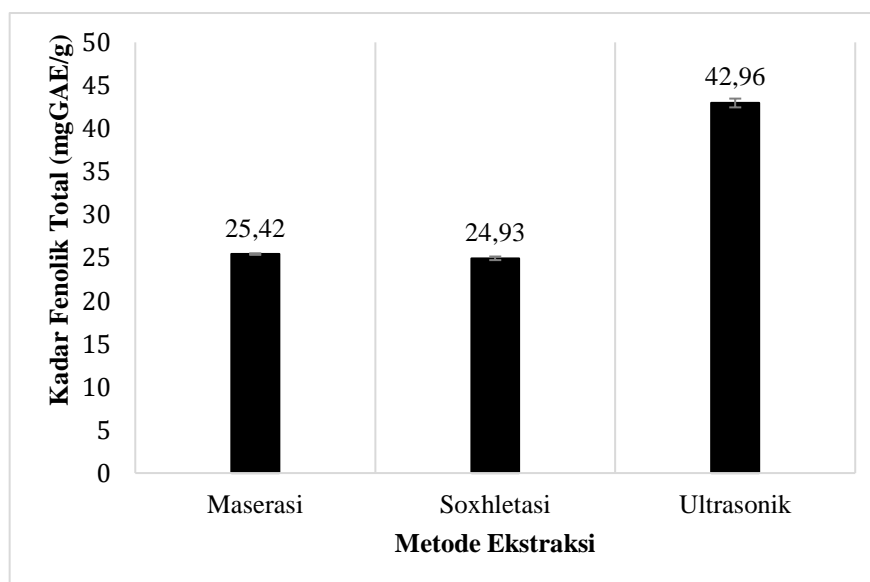
r mendekati angka 1 menunjukkan bahwa persamaan garis tersebut linear. Hasil penentuan kadar fenolik total dan flavonoid total dari masing-masing ekstrak daun *S. androgynus* yang diekstraksi dengan tiga jenis metode ekstraksi dapat dilihat pada **Gambar 1.** dan **Gambar 2.** Berdasarkan hasil tersebut dapat terlihat bahwa, metode ekstraksi yang dibantu dengan ultrasonik memberikan hasil perolehan senyawa



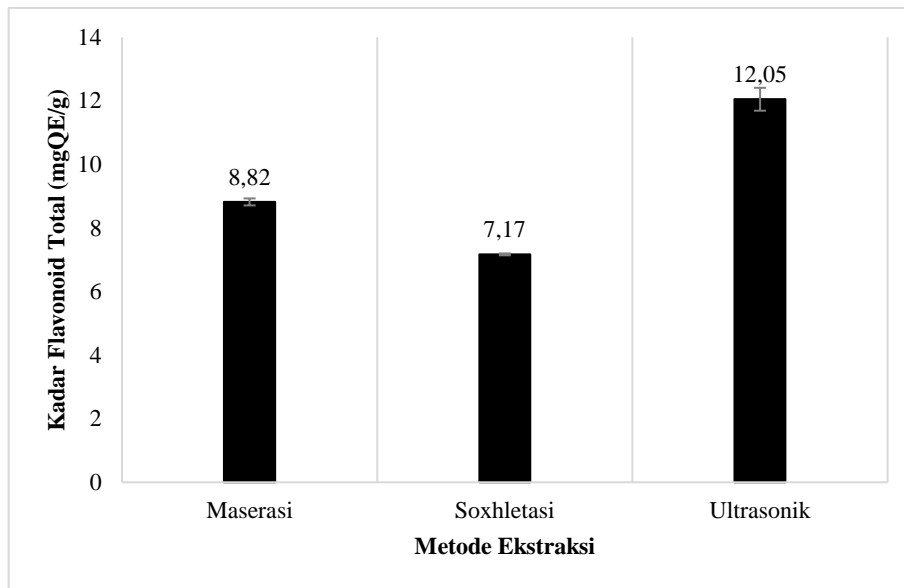
fenolik dan flavonoid yang lebih tinggi dibandingkan metode lainnya (Ultrasonik>Maserasi>Soxhletasi).

Grafik pada **Gambar 3**. menunjukkan potensi antioksidan dari ekstrak etanol 70% daun *S. androgynus* yang diekstrak dengan metode ultrasonik ($IC_{50} = 81,43$ ppm) terhadap radikal DPPH dibandingkan metode lainnya (Ultrasonik > Maserasi > Soxhletasi). Berdasarkan hasil uji multivariat, diperoleh bahwa ketiga metode ekstraksi punya pengaruh yang signifikan terhadap kadar fenolik, flavonoid dan aktivitas antioksidan (nilai IC_{50}) dengan nilai signifikansi 0,000 (>0,05). Pada uji *Pearson Correlation* menunjukkan bahwa hasil penafsiran korelasi diperoleh hasil bahwa antara fenolik dan flavonoid memiliki hubungan (korelasi) positif yang kuat

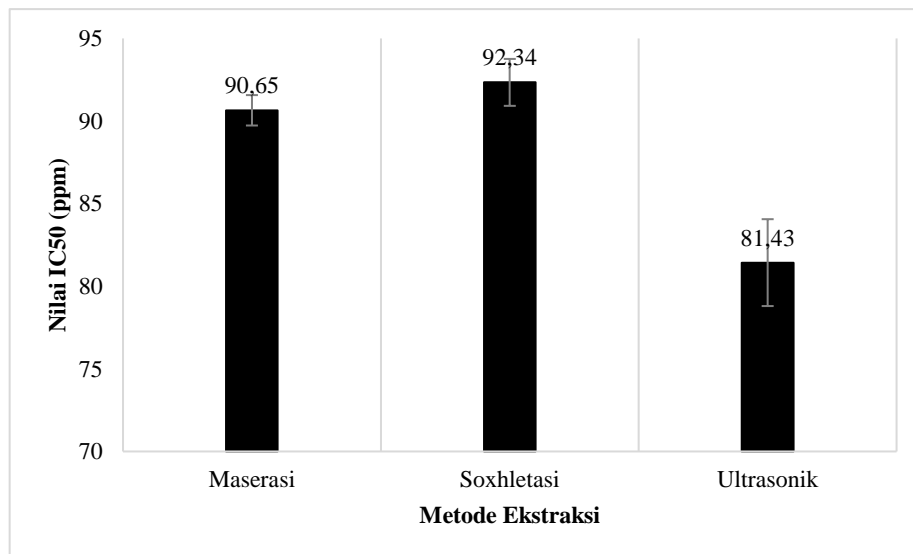
dengan nilai +0,682 (>0,5) yang artinya, semakin tinggi kadar fenolik ada kecenderungan semakin tinggi pula kadar flavonoid, dan sebaliknya. Sedangkan antara fenolik dan flavonoid terhadap aktivitas antioksidan (nilai IC_{50}) memiliki korelasi yang lemah (masing-masing secara berturut-turut -0,923 dan -0,911). Nilai signifikansi hasil korelasi fenolik, flavonoid dan nilai IC_{50} menunjukkan bahwa ketiganya berkorelasi secara nyata (sig. 0,000 < 0,05). Hasil uji regresi berganda menunjukkan bahwa hubungan antara IC_{50} dengan fenolik dan flavonoid adalah kuat ($R = 0,931 > 0,5$). Hasil uji F diperoleh nilai $F=29,195$ dengan nilai signifikansi 0,000 < 0,05 yang berarti bahwa kadar fenolik dan flavonoid secara bersama-sama berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan (nilai IC_{50}).



Gambar 1. Grafik perbedaan kadar fenolik total ekstrak etanol 70% daun *S. androgynus* yang diekstraksi dengan metode ekstraksi berbeda. Pengujian tiap ekstrak dilakukan 5 kali pengulangan dan dilaporkan dalam rata-rata \pm SD



Gambar 2. Grafik perbedaan kadar flavonoid total ekstrak etanol 70% daun *S. androgynus* yang diekstraksi dengan metode ekstraksi berbeda. Pengujian tiap ekstrak dilakukan 5 kali pengulangan dan dilaporkan dalam rata-rata \pm SD



Gambar 3. Grafik perbedaan nilai IC₅₀ ekstrak etanol 70% daun *S. androgynus* yang diekstraksi dengan metode ekstraksi berbeda. Pengujian tiap ekstrak dilakukan 5 kali pengulangan dan dilaporkan dalam rata-rata \pm SD



4. PEMBAHASAN

Ekstraksi yang dibantu dengan ultrasonik dilakukan dengan frekuensi radiasi ultrasonik >20 kHz. Sonikasi menghasilkan gelombang suara yang menyebabkan gelembung kavitasi pada jaringan bahan. Hal ini mengakibatkan terjadinya kerusakan pada dinding sel yang kemudian menyebabkan isi sel berupa metabolit tanaman keluar (Khoddami et al., 2013). Hal ini yang menyebabkan metode tersebut mampu menghasilkan metabolit aktif yang lebih banyak terekstraksi. Etanol sebagai pelarut pengestraksi memiliki kemampuan mengekstraksi polifenol, tannin, poliasetilena, flavonol, terpenoid, sterol dan alkaloid (Azmir et al., 2013; Pandey & Tripathi, 2014). Pelarut pengestraksi yang umumnya digunakan untuk ekstraksi polifenol dan fenolik sederhana adalah alkohol (metanol, etanol dan propanol), air, aseton dan etil asetat (Stalikas, 2007). Sedangkan flavonoid umumnya diekstraksi dengan metanol, etanol, aseton air atau campuran pelarut tersebut menggunakan ekstraksi panas seperti refluks atau Soxhletasi. Perbedaan hasil yang diperoleh dalam tiap pelarut tersebut tergantung dari jenis dan sifat dari senyawa fenolik pada tanaman (Khoddami et al., 2013).

Penentuan kadar fenolik dan flavonoid daun *S. androgynus* dilakukan dengan metode kolorimetri menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Fenolik merupakan suatu senyawa dengan jumlah terbesar di alam yang sering ditemukan di tumbuhan. Penentuan kadar fenolik dari sampel bahan alam dapat dilakukan dengan berbagai metode seperti Folin-Denis, Folin-ciocalteu, titrasi permanganat, kolorimetri dengan garam besi dan serapan UV. Namun, metode Folin-ciocalteu merupakan metode yang paling sering dipilih dibanding metode

lainnya karena dianggap sebagai metode yang sederhana dan reproduksibel serta dapat digunakan secara luas untuk menentukan senyawa fenolik secara kuantitatif dari bahan dan ekstrak tanaman. Metode ini bergantung pada transfer elektron dari medium alkali dari senyawa fenolik terhadap fosfomolibdat/fosfotungstat untuk membentuk kompleks biru ($\text{PMoW}_{11}\text{O}_{40}^{4-}$) yang ditentukan secara spektroskopi sekitar 760 nm. Asam galat digunakan sebagai standard. Kadar fenolik total kemudian disetarakan dengan mg dari asam galat tiap gram atau kilogram atau liter dari ekstrak (Dai & Mumper, 2010).

Flavonoid merupakan suatu turunan fenolik dengan sistem cincin aromatis terkonjugasi sehingga mampu memberikan serapan pada sinar UV. Kuersetin digunakan sebagai standard dan merupakan salah satu kelompok flavonol dengan gugus hidroksil yang tersubstitusi pada karbon nomor 5 dan 7 pada cincin aromatis A serta karbon nomor 3 pada C heterosiklik, dan gugus keto yang tersubstitusi pada karbon nomor 4 pada cincin C heterosiklik. Hidroksil pada karbon nomor 3 atau 5 serta keto pada posisi karbon nomor 4 inilah yang dengan AlCl_3 akan membentuk kompleks kuning cerah yang stabil pada sinar tampak/*visible*) (Hanani, 2015).

Semua teknik ekstraksi memiliki kesamaan tujuan, yaitu untuk mengekstrak senyawa bioaktif yang ditargetkan dari sampel tanaman, untuk meningkatkan selektivitas, meningkatkan kepekaan *bioassay* dengan meningkatkan konsentrasi senyawa yang ditargetkan, serta untuk menyediakan metode yang ajeg dan dapat direproduksi dari matriks sampel (Azmir et al., 2013). Ekstraksi yang dibantu dengan ultrasonik mampu menghasilkan senyawa fenolik (termasuk flavonoid) yang lebih tinggi karena sampel kontak dengan pelarut secara kontinu



dengan prosedur yang cepat, mudah, dan dapat dioperasikan dengan cepat dalam berbagai pelarut untuk sediaan skala besar yang sesuai tujuan industri dibandingkan dengan metode konvensional seperti maserasi (Khoddami et al., 2013).

DPPH[•] merupakan suatu radikal bebas. Pengujiannya didasarkan pada pengukuran kapasitas peredaman oleh suatu antioksidan yang diukur pada panjang gelombang sekitar 515-517 nm. Aktivitas antioksidan dihitung dengan menentukan penurunan absorbansi produk pada konsentrasi yang berbeda dan dibandingkan dengan absorbansi blanko (tanpa bahan uji). Metode ini merupakan metode yang sederhana, akurat, valid, sensitif, dan relatif murah serta reproduksibel. Kelemahan dari metode ini yaitu radikal DPPH berinteraksi juga dengan radikal lainnya (alkil), dan sensitif pada beberapa basa Lewis. Selain itu, metode ini juga memerlukan pelarut organik dalam pengujiannya. Keberadaan oksigen dapat bereaksi dengan DPPH secara langsung dengan kondisi tanpa perlindungan cahaya yang kemudian menyebabkan penurunan serapan (Singh & Singh, 2008).

Fenolik mampu meredam *reactive oxygen species* (ROS) meliputi spesies oksigen radikal dan non radikal seperti $O_2^{\bullet-}$, HO^{\bullet} , NO^{\bullet} , H_2O_2 , 1O_2 , $HOCl$, dan juga radikal bebas RO^{\bullet} dan ROO^{\bullet} yang umumnya sebagai pengoksidasi. Ada dua mekanisme antioksidan, yaitu (1) kemampuan gugus fungsi fenol untuk mendonorkan atom Hidrogen ke radikal bebas. Mekanisme ini disebut dengan mekanisme transfer atom hydrogen (*hydrogen-atom transfer*, HAT); (2) Transfer elektron tunggal (*single-electron transfer*, SET) dari antioksidan fenolik (AROH) menjadi radikal bebas (R^{\bullet} dengan membentuk kation radikal yang stabil ($ArOH^{\bullet+}$) (Quideau et al., 2011). Flavonoid memiliki beberapa mekanisme

kerja sebagai antioksidan, salah satunya dengan peredaman radikal secara langsung. Flavonoid akan dioksidasi oleh radikal, menghasilkan radikal yang lebih stabil (kurang reaktif). Dengan kata lain, flavonoid menstabilkan ROS dengan bereaksi dengan radikal. Hal ini terjadi karena tingginya reaktivitas dari gugus hidroksil dari flavonoid (Nijveldt et al., 2001).

Metode ekstraksi yang dibantu ultrasonik terbukti mampu menghasilkan ekstrak dengan rendemen ekstrak dan kandungan senyawa antioksidan yang tinggi dari daun *S. androgynus*. Namun, dirasa masih perlu dilakukan optimasi dengan parameter variasi waktu, frekuensi, rasio bahan pelarut, suhu serta variasi pelarut menggunakan ekstraksi ultrasonik untuk menghasilkan senyawa antioksidan berupa fenolik dan flavonoid yang paling baik pada daun *S. androgynus*.

5. KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa metode ekstraksi yang diujikan berpengaruh terhadap perolehan senyawa antioksidan dari daun *S. androgynus*. Metode ekstraksi ultrasonik merupakan metode ekstraksi yang relatif efektif serta efisien dari segi biaya, waktu, penggunaan energi, bahan dan pelarut pengestraksi dibanding dengan metode konvensional.

6. UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih tim penulis sampaikan kepada Dr. apt. Hadi Sunaryo, M.Si selaku Dekan Fakultas Farmasi dan Sains, Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA atas izin dan dukungan fasilitas di Laboratorium Terpadu. Ucapan terimakasih juga tim penulis sampaikan kepada Lembaga Penelitian dan Pengembangan Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA



selaku pemberi dana Hibah Penelitian Internal Skema Penelitian Dasar Keilmuan Batch II tahun 2019.

7. DAFTAR PUSTAKA

- Altemimi, A., Lakhssassi, N., Baharlouei, A., & Watson, D. G. (2017). Phytochemicals: Extraction, Isolation, and Identification of Bioactive Compounds from Plant Extracts. *Plants*, 6(42), 1–23.
- Andarwulan, N., Batari, R., Sandrasari, D. A., Bolling, B., & Wijaya, H. (2010). Flavonoid content and antioxidant activity of vegetables from Indonesia. *Food Chemistry*, 121(4), 1231–1235.
- Andini, D. (2014). Potential Of Katuk Leaf (*Sauropus androgynus* L. Merr) As Aphrodisiac. *Journal Majority*, 3(7), 16–21.
- Arceusz, A., Wesolowski, M., & Konieczynski, P. (2013). Methods for Extraction and Determination of Phenolic Acids in Medicinal Plants : A Review. *Natural Product Communications*, 8(12), 1821–1829.
- Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., ... Omar, A. K. M. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*, 117(4), 426–436.
- Azwanida, N. N. (2015). Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation. *Medicinal and Aromatic Plants*, 4(3), 1–6.
- Chang, C.-C. ., Yang, M.-H. ., Wen, H.-M. ., & Chern, J.-C. (2002). Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3), 178–182.
- Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15(10), 7313–7352.
- Departemen Kesehatan RI. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan* (p. 76). p. 76. Jakarta: Ministry of Health, Indonesia.
- Djamil, R. ., & Zaidan, S. (2016). Isolasi Senyawa Flavonoid dari Ekstrak Metanol Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr), Euphorbiaceae. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 14(1), 57–61.
- Hanani, E. (2015). *Analisis Fitokimia (In Bahasa)*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Hikmawanti, N. P. E., Rusdi, N. K., & Yulida, S. (2020). Evaluation of sperm quality in male rats treated with *Sauropus androgynus* (L.) Merr. leaf fractions. *Pharmaciana*, 10(2), 193–200.
- Kementerian Kesehatan RI. (2008). *Farmakope Herbal Indonesia (FHI)* (Ed. 1). Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.
- Khoddami, A., Wilkes, M. A., & Roberts, T. H. (2013). Techniques for analysis of plant phenolic compounds. *Molecules*, 18(2), 2328–2375.
- Khoo, H. E., Azlan, A., & Ismail, A. (2015). *Sauropus androgynus* Leaves for Health Benefits: Hype and the Science. *The Natural Products Journal*, 5, 115–123.
- Moharram, H. A. ., & Youssef, M. M. (2014). Methods for Determining the Antioxidant Activity: A Review. *Alexandria Journal of Food Science and Technology*, 11(1), 31–42.
- Nijveldt, R. J., Van Nood, E., Van Hoorn, D. E. C., Boelens, P. G., Van Norren, K., & Van Leeuwen, P. A. M. (2001). Flavonoids: A review of probable mechanisms of action and potential



- applications. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 74, 418–425.
- Pandey, A., & Tripathi, S. (2014). Concept of standardization, extraction and pre phytochemical screening strategies for herbal drug. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2(5), 115–119.
- Patonah, Susilawati, E., & Riduan, A. (2017). Aktivitas Antiobesitas Ekstrak Daun Katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) Pada Model Mencit Obesitas. *Pharmacy*, 14(02), 137–152.
- Petrus, A. J. A. (2013). *Sauropus androgynus* (L.) Merrill - a potentially nutritive functional leafy-vegetable. *Asian Journal of Chemistry*, 25(17), 9425–9433.
- Quideau, S., Deffieux, D., Douat-casassus, C., & Pouysøgu, L. (2011). Natural Products Plant Polyphenols : Chemical Properties , Biological Activities , and Synthesis **. *Angew. Chem. Int.*, 50, 586–621.
- Rusdi, N. K., Hikmawanti, N. P. E., Maifitrianti., Ulfah, Y. S., & Annisa, A. T. (2018). Aktivitas Afrodisiaka Fraksi dari Ekstrak Etanol 70% Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr) Pada Tikus Putih Jantan. *Pharmaceutical Sciences and Research (PSR)*, 5(3), 123–132.
- Singh, S., & Singh, R. P. (2008). In vitro methods of assay of antioxidants: An overview. *Food Reviews International*, 24(4), 392–415.
- Stalikas, C. D. (2007). Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *J. Sep. Sci.*, 30, 3268–3295.
- Wan, C., Yu, Y., Zhou, S., Liu, W., Tian, S., & Cao, S. (2011). Antioxidant activity and free radical-scavenging capacity of *Gynura divaricata* leaf extracts at different temperatures. *Pharmacognosy Magazine*, 7(25), 40–45.
- Watson, R. R. (Ed.). (2019). *Polyphenols in Plants: Isolation, Purification and Extract Preparation* (2nd ed.). London: Academic Press Elsevier.
- Wijono, S. H. (2004). Isolasi dan Identifikasi Asam Fenolat pada Daun Katu (*Sauropus androgynus* (L.) Merr). *Makara, Kesehatan*, 8(1), 32–36.
- World Health Organization. (1998). *Quality control methods for medicinal plant materials*. Geneva, Switzerland: World Health Organization.
- Yang, J., Paulino, R., Janke-Stedronsky, S., & Abawi, F. (2007). Free-radical-scavenging activity and total phenols of noni (*Morinda citrifolia* L.) juice and powder in processing and storage. *Food Chemistry*, 102(1), 302–308.



UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA
FAKULTAS FARMASI DAN SAINS

Jl. Limau II, Kebayoran Baru, Jakarta 12130 Tel. (021) 7208177, 722886, Fax. (021) 7261226, 7256620
Islamic Centre, Jl. Delima II/IV, Klender, Jakarta Timur Tlp.: (021) 8611070, Fax. (021) 86603233
Website: www.ffi-uhamka.ac.id; E-mail: ffi@uhamka.ac.id

SURAT TUGAS
MELAKUKAN KEGIATAN PENELITIAN DAN PUBLIKASI
NO. 893/F.03.08/2021

Bismillahirrohmanirrohiim,

Yang bertanda tangan di bawah ini

N a m a	Dr. apt. Hadi Sunaryo, M.Si.
NIDN	0325067201
Pangkat /Jabatan Akademik	Penata Tk. I, IIIId/ Lektor Kepala
Jabatan	Dekan
Unit Kerja	Fakultas Farmasi dan Sains UHAMKA Jakarta

Memberikan tugas Penelitian dan Publikasi pada **tahun akademik 2020/2021** kepada:

N a m a	Sofia Fatmawati, M.Si., Apt
NID/NIDN	D.18.1309/ 0624038901
Pangkat /Jabatan Akademik	Penata Muda Tk. I/ III-B
Jabatan Fungsional	Asisten Ahli
Unit Kerja	Fakultas Farmasi dan Sains UHAMKA Jakarta

Untuk Melaksanakan Penelitian dan Publikasi sebagai berikut:

NO	JUDUL PENELITIAN DAN PUBLIKASI
1.	Pengaruh Cara Pengeringan Simplisia Terhadap Kadar Fenolik Dan Aktivitas Tabir Surya Ekstrak Etanol 70% Daun Cincau Hijau (Cyclea barbata Miers.)

Demikian surat tugas ini diberikan kepada yang bersangkutan untuk dilaksanakan dengan penuh amanah dan tanggung jawab

Jakarta, 06 Maret 2021

Dekan,

Dr. apt. Hadi Sunaryo, M.Si.

Tembusan Yth:

1. Rektor UHAMKA Jakarta
2. Wakil Rektor I dan II UHAMKA Jakarta
3. Arsip

PENGARUH CARA PENGERINGAN SIMPLISIA TERHADAP KADAR FENOLIK DAN AKTIVITAS TABIR SURYA EKSTRAK ETANOL 70% DAUN CINCAU HIJAU (*Cyclea barbata* Miers.)

Lisa Rusmawati¹⁾, Landyyun Rahmawan Sjahid²⁾, Sofia Fatmawati^{3) *)}

¹ Fakultas Farmasi dan Sains, Universitas Muhamamdiyah Prof Dr Hamka

² Unit Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi dan Sains, Universitas Muhamamdiyah Prof Dr Hamka

³ Unit Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi dan Sains, Universitas Muhamamdiyah Prof Dr Hamka

*email: fatmawatisofia@gmail.com

Abstract

*Extract cincau leaves green according to previous studies have the value of the antioxidant IC50 49,45±0,64 µg/mL. According to researchers the phenol formerly produced through a method of drying oven with higher than the drying with sunlight and dried use wind. The research aims to understand the influence of means drying simplisia against phenolic levels total and the activity of a natural sunscreen on extract ethanol 70 % cincau leaves green (*Cyclea barbata* Miers). Drying simplisia in research is divided into three which is drying with the dry wind, the sun, and an oven. Green leaves cincau simplisia extracted by using the method maceration. Testing the phenolic committed using the folin ciocalteu method. The determination is based on the SPF value Mansur. The results of the value of phenolic or on the program have managed to extract by the difference means drying simplisia dry wind, the rays of the sun and an oven respectively namely 32,7089; 46,2500 and 59,5500 mgGAE / g. The SPF value obtained from each extract with different methods of drying simplisia showed significant differences in various concentration test.*

Keywords: *drying, cincau, leaves, phenolic, sunscreen*

1. PENDAHULUAN

Matahari memancarkan sinar yang mengandung radiasi ultra violet (UV) yang tidak dapat dilihat dan dirasakan secara langsung oleh diri manusia. Pada dasarnya, sinar ultra violet dari matahari memiliki manfaat yang baik, salah satunya adalah untuk pembentukan kolekalsiferol (Vitamin D3). Selain itu, radiasi sinar UV dalam waktu yang cukup dan rutin seringkali digunakan untuk terapi penyakit tuberkulosis, psoriasis, dan vitiligo (Cefali dkk, 2016).

Radiasi yang berlebihan dapat mengakibatkan efek merugikan pada manusia. Radiasi sinar UV-B yang memiliki panjang gelombang 290-320 nm dapat menembus dengan baik stratum

corneum dan epidermis yang cukup parah dan menyebabkan iritasi pada kulit sehingga disebut daerah eritema. Radiasi sinar UV-A memiliki panjang gelombang 320-400 nm dapat menyebabkan warna coklat (*tanning*) pada kulit tanpa terjadi inflamasi sehingga disebut daerah pigmentasi. Meskipun sinar UV-A memiliki energi yang lebih rendah daripada sinar UV-B, tetapi kenyataannya keduanya dapat menembus lebih jauh ke dalam hipodermis, menyebabkan elastosis (kekurangan dengan struktural dan elastisitas kulit) dan kerusakan kulit lainnya, UV-B berpotensi mengarah ke kanker kulit (Setiawan, 2010).

Kulit adalah organ tubuh terluar dan terbesar oleh karena itu paling cenderung secara langsung terpapar sinar

matahari. Tahun belakangan ini, akibat dari radiasi ultraviolet dihubungkan dengan penyakit dan kelainan pada pertumbuhan. Ketika kulit terpapar radiasi ultraviolet dalam waktu yang lama, hal tersebut dapat meningkatkan radikal bebas. Radikal bebas dapat memacu terjadinya kanker kulit (Afaq & Mukhtar, 2001).

Kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas dapat dicegah atau dihambat oleh suatu senyawa antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghentikan reaksi berantai dari radikal bebas di dalam tubuh sehingga sel-sel tubuh dapat terhindar dari kerusakan akibat reaksi dari radikal bebas (Hernani, 2005), selain itu antioksidan dapat menyumbangkan elektronnya kepada radikal bebas dan menstabilkan radikal tersebut sehingga menjadi tidak reaktif lagi (Suhartono, 2002).

Salah satu sumber antioksidan alami yang terdapat dalam tumbuhan adalah senyawa fenolik. Diantara sekian banyak senyawa fenolik tumbuhan yang diketahui, golongan flavonoid merupakan golongan terbanyak yang bersifat sebagai antioksidan. Kemampuan flavonoid untuk menghambat radikal bebas terjadi karena adanya gugus hidroksi fenolik dalam struktur molekulnya (Kate, 2014).

Ekstrak daun cincau hijau (*Cyclea barbata* Miers.) diketahui mengandung alkaloid, flavonoid, steroid/triterpenoid, tannin, saponin dan kumarin serta ekstrak daun cincau hijau juga memiliki antioksidan yang tinggi dengan nilai IC_{50} $49,45 \pm 0,64$ $\mu\text{g/ml}$ dan nilai total flavonoid sebesar $9,93 \pm 0,2\%$ (Farida dkk, 2015). Menurut Muller (2006), pengeringan simplisia dengan oven dianggap lebih menguntungkan karena akan terjadi pengurangan kadar air dalam jumlah besar dalam waktu yang singkat.

Berdasarkan uraian tersebut, daun cincau hijau diketahui memiliki senyawa fenolik dan berpotensi sebagai tabir surya. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh perbedaan

cara pengeringan simplisia terhadap kadar fenolik total serta aktivitas tabir surya pada ekstrak etanol 70% daun cincau hijau.

2. METODE PENELITIAN

Alat

Pisau, toples kaca, pipa kapiler (Marienfeld), batang pengaduk, pipet tetes, mikropipet (DUMO), *beaker glass* (pyrex IWAKI), wadah cokelat, labu ukur (pyrex IWAKI), tabung reaksi (pyrex IWAKI), kaca arloji, botol timbang (IWAKI), krus, ayakan mesh 40, kertas saring, spatel, gelas ukur (Pyrex IWAKI), neraca analitik (OHAUS), *digital thermostatic water bath* (Thomas scientific), oven (Mammert Un 110), *hot plate* (AKEBONNO), *aluminium foil*, UV Lamp (CAMAG), kuvet, kertas saring, vakum *rotary evaporator* (EYELA), moisture balance (Mettler toledo), spektrofotometer UV-Vis UV-1900 (Shimadzu).

Bahan

Daun cincau hijau (*C. barbata* Miers.), etanol 70%, etanol p.a. (Smart-Lab), besi (III) klorida 1% (Merck KgaA), aquadest, HCl, DCM, Metanol, pereaksi Dragendroff, Mayer, Bouchardat, Wagner, amonia, asam sulfat 5%, asam nitrat 25%, potasium asetat natrium hidroksida 5%, asam klorida 5%, besi (III) klorida 1% (Merck KgaA), eter, asam asetat anhidrat (Tedia), Magnesium Powder (Merck KgaA), Asam Galat (Sigma-Aldrich), *Folin Ciocalteu* (Merck KgaA), Na_2CO_3 dan lain-lain.

Pembuatan ekstrak

Sejumlah 600 g serbuk simplisia daun cincau hijau (*C. barbata* Miers.) diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70% dengan remaserasi sebanyak 6 kali. Selanjutnya dilakukan filtrasi dan diupayakan menggunakan *rotary vacuum evaporator*. Ekstrak disimpan dalam desikator dan digunakan untuk percobaan selanjutnya

(Farida dkk, 2015). Ekstrak tersebut dihitung rendemennya, diuji organoleptik, kadar air, kadar abu total dan skrining fitokimia.

Penetapan kadar fenolik

Kadar fenolik total ditetapkan menggunakan metode *Folin Ciocalteu* dengan sedikit perubahan. Sebanyak 1 mL larutan ekstrak 1000 ppm dan ditambah 5 mL reagen *Folin-Ciocalteu* 10% (yang telah dilarutkan dalam aqudest) digojog didiamkan selama 8 menit dan ditambah 4 mL larutan Na₂CO₃ 7,5% (Siddiqui dkk, 2017). Didiamkan lagi pada *range operating time* 126 menit pada suhu kamar. Absorbansi larutan ekstrak diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang absorbansi maksimum 759 nm. Lakukan 3 kali pengulangan sehingga kadar fenol yang diperoleh hasilnya didapat sebagai mgGAE/g ekstrak. Kandungan total fenolik dihitung menggunakan rumus(1) (Siddiqui dkk., 2017):

$$C = \frac{C1 \cdot V \cdot FP}{m} \dots\dots\dots(1)$$

Keterangan:

- C = Kandungan total fenolik dalam mg/g, dalam GAE (*Gallic Acid Equivalent*)
- C1 = Konsentrasi asam galat dibentuk dari kurva kalibrasi (mg/mL)
- V = Volume ekstrak (mL)
- M = Berat ekstrak (g)

Uji tabir surya

Sebanyak 10 mg ekstrak daun cincau hijau dipindahkan ke labu volumetrik 10,0 mL lalu ad tanda batas dengan etanol lalu disaring untuk memberikan larutan 1000 ppm. Dibuat dengan berbagai konsentrasi yaitu 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm dengan masing – masing pelarut. Lalu baca serapan pada panjang gelombang 290 - 320 nm tiap kenaikan 5 nm menggunakan spektrofotometri UV-Vis digunakan etanol sebagai blanko (Priyanka dkk, 2018).

Penentuan nilai SPF dilakukan berdasarkan persamaan Mansur (1986)(2):

$$SPF = \frac{CF}{\sum_{290}^{320} EE(\lambda) \times I(\lambda) \times Abs(\lambda)} \dots\dots\dots(2)$$

- CF = Faktor korelasi (10),
 - EE = efisiensi eritema radiasi dengan panjang gelombang λ ,
 - I = spektrum intensitas cahaya,
 - Abs = absorbansi sampel tabir surya.
- Nilai EE x I adalah suatu konstanta yang sudah ditetapkan menurut (Sayre dkk, 1979) pada Tabel 1.

Tabel 1. Nilai EE x I (Sayre dkk, 1979)

Panjang gelombang (λ 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	1,000

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil rendemen ekstrak etanol 70% daun cincau hijau yang didapatkan (Tabel 2) menunjukkan bahwa hasil rendemen terbesar diperoleh ekstrak dengan cara pengeringan simplisia sinar matahari. Pengeringan simplisia dengan oven didapatkan rendemen yang sedikit dikarenakan banyaknya ekstrak cair yang tumpah pada saat pengentalan ekstrak sehingga mempengaruhi hasil rendemen yang didapat.

Tabel 2. Hasil rendemen ekstrak

Jenis pengering-an simplisia	Serbuk simplisia	Ekstrak kental	% Rende-men
Kering angin	200 g	22,12 g	11,06%
Sinar matahari	200 g	29,42 g	14,71%
Oven	200 g	15,56 g	7,78%

Susut Pengerinan bertujuan untuk mengetahui kadar air dan senyawa *volatile* yang terkandung didalam ekstrak. Kadar air sebaiknya lebih kecil dari 10%. Apabila kadar air lebih besar dari 10% akan menyebabkan terjadinya proses enzimatik dan kerusakan oleh mikroba (Manoi, 2006). Hasil susut pengerinan dan kadar abu dapat dilihat pada Tabel 3. Dari semua hasil susut pengerinan yang didapatkan tidak melebihi dari 10% yang berarti masing masing ekstrak memenuhi kriteria standar.

Pengujian Kadar Abu bertujuan untuk mengetahui kadar bahan anorganik atau mineral-mineral yang terdapat dalam ekstrak setelah dilakukan pengabuan. Kadar abu daun cincau hijau menurut Depkes (1989), tidak lebih dari 17%. Dari semua sampel ekstrak jika dibandingkan dengan yang ada menurut Depkes (1989), hasil yang didapatkan dari masing-masing ekstrak dengan pengaruh cara pengerinan kering angin, sinar matahari dan oven lebih kecil dibandingkan yang terdapat pada literatur. Hal ini dapat dipengaruhi dari tanah, lingkungan tempat tumbuh dan pengaruh lainnya.

Tabel 3. Hasil susut pengerinan dan kadar abu

Jenis Ekstrak Berdasarkan Cara Pengerinan Simplisia	Susut Pengerinan	Kadar Abu
Kering angin	4,75%±0,57	16,09% ±0,10
Sinar matahari	4,16%±0,17	15,51% ±0,24
Oven	3,95%±0,16	15,36% ±0,42

Penapisan fitokimia pada ekstrak daun cincau hijau dilakukan dengan 3 perlakuan berdasarkan perbedaan cara pengerinan simplisia yaitu kering angin, sinar matahari dan oven yang terdapat pada Tabel 4. Dari hasil yang didapatkan

disimpulkan bahwa ekstrak daun cincau hijau mengandung senyawa fenol, flavonoid, alkaloid, tanin, saponin dan terpenoid.

Tabel 4. Hasil penapisan ekstrak

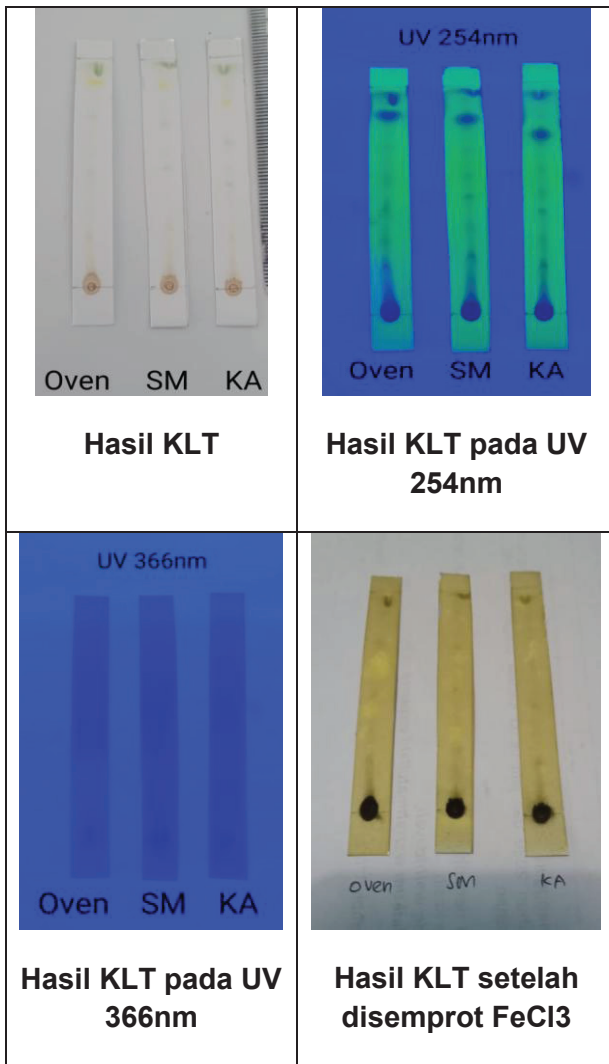
Uji Identifikasi	Kering Angin	Ekstrak Sinar Matahari	Oven
Fenol	(+)	(+)	(+)
Flavonoid	(+)	(+)	(+)
Alkaloid:	(+)	(+)	(+)
Tanin	(+)	(+)	(+)
Saponin	(+)	(+)	(+)
Terpenoid	(+)	(+)	(+)
Steroid	(-)	(-)	(-)

Keterangan :

(+)Mengandung senyawa yang teridentifikasi

(-)Tidak mengandung senyawa yang teridentifikasi

Senyawa fenol juga terdeteksi menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT) dengan fase gerak kloroform-etil asetat - toluen (2:6:2). Pengamatan dilakukan pada sinar UV (*Ultra Violet*) tampak 254 nm dan 366 nm (Mahadi dkk, 2018). Pada sinar UV 254 nm terdapat bercak biru kehitaman namun pada UV 366 nm tidak ditemukan bercak apapun (Gambar 1). Setelah itu dilakukan penyemprotan lempeng menggunakan FeCl₃ yang digunakan untuk mendeteksi senyawa golongan fenol. Nilai R_f yang didapatkan secara berurutan berdasarkan cara pengerinan dengan kering angin, sinar matahari dan oven yaitu 0,8 ; 0,8769 ; 0,8923.



Gambar 1. Hasil Kromatografi Lapis Tipis (KLT). KA: Kering Angin, SM: Sinar Matahari

Penetapan kadar fenolik total

Penetapan kadar fenolik total menggunakan metode *Folin Ciocalteu*. Metode ini berdasarkan pada kekuatan mereduksi dari gugus hidroksi fenolik. Reagen *Folin Ciocalteu* diperoleh dari natrium tungstat dan natrium molibdat untuk menghasilkan senyawa molibdotungstat yang berwarna kuning (Prior dkk, 2005). Larutan Na_2CO_3 7,5% biasa digunakan dalam reaksi untuk menghasilkan kondisi basa. Selama reaksi berlangsung gugus hidroksil pada senyawa fenolik bereaksi dengan reagen membentuk kompleks berwarna biru yang

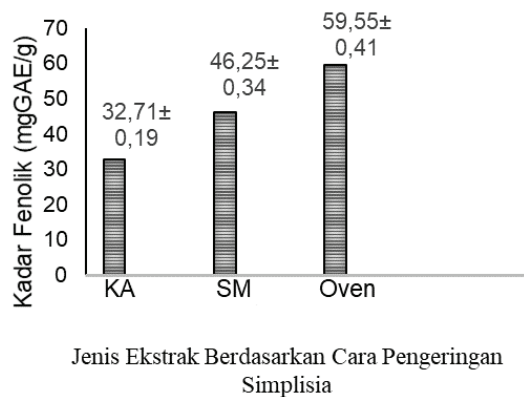
dihasilkan setara dengan konsentrasi ion fenolat, sehingga semakin besar konsentrasi senyawa fenolik semakin banyak ion fenol yang terbentuk, demikian pula dengan warna biru yang dihasilkan semakin pekat (Aspari & Susanti, 2011).

Salah satu golongan fenol alami adalah asam galat dan pada pengujian ini asam galat digunakan sebagai larutan standar. Panjang gelombang maksimal yang didapatkan yaitu 759nm. Hasil absorbansi stabil didapatkan pada waktu 126 menit.

Persamaan regresi linier standar asam galat yaitu $y = 0,0080x \pm 0,0011$ dengan nilai koefisien r sebesar 0,9998. Persamaan kurva kalibrasi tersebut digunakan sebagai pembandingan untuk menentukan konsentrasi senyawa fenolik total pada ekstrak daun cincau hijau. Kandungan total fenol pada ekstrak daun cincau hijau dinyatakan sebagai *GAE* (*Gallic acid equivalent*) dalam mgGAE/g.

Hasil nilai rata-rata kadar fenolik (Gambar 2) yang didapatkan pada ekstrak dengan perbedaan cara pengeringan simplisia kering angin, sinar matahari dan oven secara berturut-turut yaitu $32,7089 \pm 0,19$ mgGAE/g, $46,2500 \pm 0,34$ mgGAE/g dan $59,5500 \pm 0,41$ mgGAE/g. Nilai kadar fenolik tertinggi yang dihasilkan yaitu pada ekstrak dengan cara pengeringan simplisia oven dibandingkan dengan sinar matahari dan kering angin. Pengaruh metode pengeringan terhadap total fenol juga dilaporkan oleh Bernard dkk (2014), bahwa total fenol yang dihasilkan melalui metode pengeringan dengan oven lebih tinggi dibandingkan dengan pengeringan dengan sinar matahari dan dikeringanginkan. Hal ini dapat disebabkan oleh inaktivasi enzim yang berlangsung lebih cepat. Bennett dkk (2011) melaporkan bahwa fenolik rentan terhadap degradasi oksidatif oleh polifenol oksidase selama pengeringan yang mengakibatkan reaksi kondensasi intermolekul dan kadarnya menurun. Pengeringan dengan oven menggunakan suhu yang lebih tinggi dari pengeringan

dengan sinar matahari dan kering angin serta dalam waktu yang lebih singkat akan mempercepat proses inaktivasi enzim polifenol oksidase sehingga kadar total fenolik menjadi lebih tinggi (Bernard dkk, 2014). Jadi kadar fenolik berpengaruh pada suhu dan waktu pengeringan simplisia. Pengeringan simplisia dengan menggunakan kering angin yaitu dengan suhu ruang dan dalam waktu 10 hari pada suhu ruang sekitar 15-30°C. Pengeringan menggunakan sinar matahari dalam waktu 5 hari pada suhu sekitar 30-35°C, sedangkan pengeringan menggunakan oven pada suhu 50°C dalam waktu 7 jam.

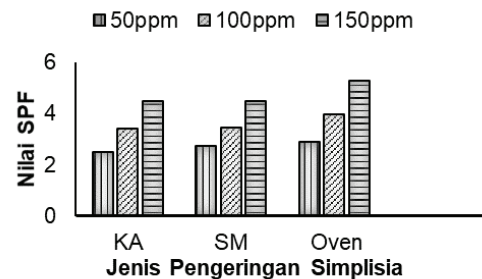


Gambar 2. Grafik Nilai Kadar Fenolik, KA: Kering Angin, SM: Sinar Matahari Uji tabir surya

Penentuan nilai SPF untuk ekstrak dilakukan dengan mengukur absorbansi pada rentang panjang gelombang 290 – 320 nm, dengan interval 5 nm. Kemudian dihitung dengan persamaan Mansur (1986).

Hasil uji tabir surya (Tabel 6 dan Gambar 3) yang didapatkan menunjukkan nilai rata-rata SPF dengan konsentrasi 50ppm, 100ppm, dan 150ppm pada masing-masing ekstrak dengan perbedaan cara pengeringan simplisia yaitu kering angin secara berurutan yaitu 2,4979±0,03; 3,4113±0,03 ; 4,4787±0,01 dengan sinar matahari 2,7379±0,0276; 3,4663±0,03 ; 4,4824±0,03 dan dengan oven 2,8777±0,03 ; 3,9889±0,03 ; 5,2914±0,04. Adanya perbedaan bermakna antara kelompok

ekstrak dengan cara pengeringan simplisia kering angin, sinar matahari, dan oven pada konsentrasi 50ppm, 100ppm dan 150ppm, kecuali pada ekstrak dengan cara pengeringan simplisia kering angin dan sinar matahari pada konsentrasi 100ppm dan 150ppm.



Gambar 3. Grafik Hasil Nilai SPF, KA: Kering Angin, SM: Sinar Matahari

Hasil nilai SPF terbesar diperoleh ekstrak dengan cara pengeringan simplisia menggunakan oven sedangkan yang paling terkecil yaitu ekstrak dengan cara pengeringan simplisia kering angin. Komponen bioaktif seperti fenol hidrokuinon, flavonoid, dan triterpenoid diduga memiliki potensi sebagai bahan krim tabir surya (Nurjanah dkk, 2015). Hasil tersebut berhubungan dengan nilai kadar fenolik yang didapat, dimana kadar fenolik ekstrak dengan cara pengeringan simplisia oven lebih tinggi dibandingkan dengan sinar matahari dan kering angin.

Menurut Wolf dkk (2001) senyawa fenolik khususnya golongan flavonoid mempunyai potensi sebagai tabir surya karena adanya gugus kromofor yang mampu menyerap sinar ultraviolet sehingga mengurangi intensitasnya pada kulit. Senyawa fenolik memiliki ikatan rangkap terkonjugasi di dalam inti benzen yang akan mengalami resonansi karena adanya transfer elektron ketika terpapar sinar UV. Mekanisme kerja perlindungan tabir surya dapat dijelaskan sebagai molekul senyawa yang menyerap energi dari sinar UV akan tereksitasi ke tingkat energi yang lebih tinggi, ketika kembali ke tingkat energi yang lebih rendah, akan

melepaskan energi. Sementara itu, sinar UV yang diserap oleh molekul yang berpotensi sebagai tabir surya, akan memiliki energi yang lebih rendah, sehingga dapat mengurangi dampak negatif paparan sinar UV. Dengan mekanisme ini, senyawa fenol dan senyawa yang bersifat sebagai tabir surya berpotensi sebagai fotoproteksi (Yuliatwati dkk, 2019).

Berdasarkan tipe proteksi SPF, sampel ekstrak dengan perbedaan cara pengeringan simplisia antara kering angin, sinar matahari dan oven memiliki tipe proteksi yang sama pada konsentrasi 50ppm, 100ppm, dan 150ppm secara berturut-turut yaitu minimal, minimal dan sedang. Proteksi minimal atau dengan nilai SPF 2-4 menunjukkan bahwa ekstrak dapat tahan atau melindungi kulit terhadap sinar matahari dua kali lebih lama tanpa kulit terbakar sedangkan proteksi sedang atau dengan nilai SPF 4-6 menunjukkan bahwa ekstrak dapat tahan atau melindungi kulit terhadap sinar matahari empat kali lebih lama tanpa kulit terbakar (Wilkinson, 1982). Semakin tinggi nilai SPF yang didapat pada suatu bahan maka semakin tinggi juga efektifitasnya untuk mencegah efek buruk dari sinar matahari (Dutra dkk, 2004). Menurut Badan Standarisasi Nasional (1996), syarat nilai faktor perlindungan tabir surya yaitu minimal 4. Nilai SPF yang masuk ke dalam kategori tersebut yaitu ekstrak dengan cara pengeringan simplisia kering angin, sinar matahari dan oven pada konsentrasi 150 ppm.

4. KESIMPULAN

Hasil penelitian yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa cara pengeringan simplisia dapat mempengaruhi nilai kadar fenolik. Nilai kadar fenolik yang diperoleh dapat berpengaruh terhadap nilai SPF.

5. DAFTAR PUSTAKA

- Afaq, F., & Mukhtar, H. 2001. Effects of solar radiation on cutaneous detoxification pathways. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 63(1-3), 61-69.
- Aspari, P., D., Susanti, H. 2011. Perbandingan Kadar Fenolik Total Ekstrak Metanol Kelopak Merah dan Ungu Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn) secara Spekrpfotometri. *Jurnal Prosiding Seminar Nasional Home Care*. 73-78.
- Badan Standarisasi Nasional. 1996. *Sediaan Tabir Surya*, SNI 16 - 4399 - 1996. Jakarta: Dewan Standarisasi Nasional, 1.
- Bennett, L.E., Jegasothy, H., Konczak, I., Frank, D., Sudharmarajan, S., Clingeffer, P.R. 2011. Total polyphenolics and anti-oxidant properties of selected dried fruits and relationships to drying conditions. *Journal of Functional Foods* 3(2):115- 124.
- Bernard, D., Kwabena, A.I., Osei, O.D., Daniel, G.A., Elom, S.A., Sandra, A. 2014. The effect of different drying methods on the phytochemicals and radical scavenging activity of Ceylon Cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) plant parts. *European Journal of Medicinal Plants* 4(11):1324-1335.
- Cefali, L. C., Ataide, J. A., Moriel, P., Foglio, M. A., & Mazzola, P. G. 2016. Plant-based active photoprotectants for sunscreens. *International Journal of Cosmetic Science*, 38(4), 346-353.
- Depkes. 1989. *Materia Medika Indonesia*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 172-176.
- Farida, Y., Gangga, E., Kartiningsih, Elisa, & Teguh. 2015. Characteristic of 70 % Ethanol Extract from Cyclea

- barbata Miers leaves and Antioxidant Activity using DPPH Method. *Proceedings of The 9th Joint Conference on Chemistry, The 9th Joint Conferences on Chemistry*, 369–376.
- Hernani. 2005. *Tanaman Berkhasiat Antioksidan*. Jakarta: Swaday, 16-20.
- Kate, D. I. 2014. Penetapan Kandungan Fenolik Total dan Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH Ekstrak Metanolik Umbi Bidari Upas (*Merremia mamnosa* (Lour) Hallier f.). *Skripsi*. Fakultas Farmasi. Universitas Sanata Dharma, 2.
- Kemenkes. 2017. *Farmakope Herbal Indonesia*. Jakarta: Kementrian Kesehatan Republik Indonesia, 528-531.
- Mahadi, R., Rasyiid, M., Dharma, K. S., Angraini, L., Nurdiyanti, R., & Nuringtyas, T. R. 2018. Immunomodulatory and Antioxidant Activity of Green Grass Jelly Leaf Extract (*Cyclea barbata* Miers.) In Vitro. *Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology*, 3(3), 73.
- Manoi, F. 2015. Pengaruh Cara Pengeringan Terhadap Mutu Simplisia Sambiloto. *Buletin Penelitian Tanaman Rempah Dan Obat*, 17(1), 1–5.
- Mansur, J. E. 1986. Determination Of Sun Protection Factor For Spectrophotometry. *An. Bras. Dermatol*, 121–124.
- Muller, J. 2006. *Drying Of Medical Plants In R.J. Bogers, L.E.Cracer, And D Lange*. Medical and Aromatic Plant, Spinger, The Netherland, 237-252.
- Nurjanah, Nurilmala, N., Anwar, E., Luthfiyana, N., 2015. Identification of bioactive compounds seaweed as raw sunscreen cream. *The 2nd International Symposium on Aquatic Products Processing and Health [ISAPROSH]*.
- Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K. 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4290–4302.
- Priyanka, S., Inala, M. S. R., Nandini, H., Kutty, A., & Kiranmayee, P. 2018. A pilot study on sun protection factor of plant extracts: An observational study. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 11(4), 67–71.
- Sayre, R. E. 1979. a Comparison of I N V I V O and I N Vitro Testing of Sunscreening Formulas. *Photochem. Photobiol* 29, 559.566.
- Setiawan, T. 2010. Uji Stabilitas Fisik Dan Penentuan Nilai SPF Krim Tabir Surya Yang Mengandung Ekstrak Daun Teh Hijau (*Camellia sinensis* L.), Oktil Metoksisinamat, Dan Titanium Dioksida. *Skripsi*. FMIPA. UI. 1-2, 108.
- Siddiqui, N., Rauf, A., Latif, A., & Mahmood, Z. 2017. Spectrophotometric determination of the total phenolic content, spectral and fluorescence study of the herbal Unani drug Gul-e-Zoofa (*Nepeta bracteata* Benth). *Journal of Taibah University Medical Sciences*, 12(4), 360–363.
- Suhartono, E. 2002. Oxygen Toxicity by Radiation if Effect of Glutamic Piruvat Transaminase (GPT) Activity Rat Plasma After Vitamin C Treatment. In. *Environmental Chemistry and Toxicology*, 97.
- Wilkinson, J. B. 1982. *Harry's Cosmeticology*. New York: Chemical Publishing Company Inc, 240-241.
- Wolf, R., Wolf, D., Morganti, P., Ruocco, V.. 2001. Sunscreens. *J. Clinic. Dermatol*. 19: 452- 459.

Yuliawati, K. M., Sadiyah, E. R., Solehati, R., & Elgiawan, A. 2019. Pengujian Aktivitas Tabir Surya Ekstrak dan Fraksi Daun Kopi Robusta (*Coffea canephora*). *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*. 1(1). 24-29.



UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA
FAKULTAS FARMASI DAN SAINS

Jl. Limau II, Kebayoran Baru, Jakarta 12130 Tel. (021) 7208177, 722886, Fax. (021) 7261226, 7256620
Islamic Centre, Jl. Delima II/IV, Klender, Jakarta Timur Tlp.: (021) 8611070, Fax. (021) 86603233
Website: www.ffi-uhamka.ac.id; E-mail: ffi@uhamka.ac.id

SURAT TUGAS
MELAKUKAN KEGIATAN PENELITIAN DAN PUBLIKASI
NO. 892/F.03.08/2021

Bismillahirrohmanirrohiim,

Yang bertanda tangan di bawah ini

N a m a	Dr. apt. Hadi Sunaryo, M.Si.
NIDN	0325067201
Pangkat /Jabatan Akademik	Penata Tk. I, IIIId/ Lektor Kepala
Jabatan	Dekan
Unit Kerja	Fakultas Farmasi dan Sains UHAMKA Jakarta

Memberikan tugas Penelitian dan Publikasi pada **tahun akademik 2020/2021** kepada:

N a m a	Sofia Fatmawati, M.Si., Apt
NID/NIDN	D.18.1309/ 0624038901
Pangkat /Jabatan Akademik	Penata Muda Tk. I/ III-B
Jabatan Fungsional	Asisten Ahli
Unit Kerja	Fakultas Farmasi dan Sains UHAMKA Jakarta

Untuk Melaksanakan Penelitian dan Publikasi sebagai berikut:

NO	JUDUL PENELITIAN DAN PUBLIKASI
1.	Analisis Timbal Pada Pensil Alis Dan Perona Mata Lokal Yang Beredar Di Toko Online Menggunakan Metode Spektrofotometri Visible

Demikian surat tugas ini diberikan kepada yang bersangkutan untuk dilaksanakan dengan penuh amanah dan tanggung jawab

Jakarta, 06 Maret 2021

Dekan,



Dr. apt. Hadi Sunaryo, M.Si.

Tembusan Yth:

1. Rektor UHAMKA Jakarta
2. Wakil Rektor I dan II UHAMKA Jakarta
3. Arsip

PAPER • OPEN ACCESS

The Effect of Ethanol Concentrations as The Extraction Solvent on Antioxidant Activity of Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) Leaves Extracts

To cite this article: Ni Putu Ermi Hikmawanti *et al* 2021 *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.* **755** 012060

View the [article online](#) for updates and enhancements.



The Electrochemical Society
Advancing solid state & electrochemical science & technology

The ECS is seeking candidates to serve as the
Founding Editor-in-Chief (EIC) of ECS Sensors Plus,
a journal in the process of being launched in 2021

The goal of ECS Sensors Plus, as a one-stop shop journal for sensors, is to advance the fundamental science and understanding of sensors and detection technologies for efficient monitoring and control of industrial processes and the environment, and improving quality of life and human health.

Nomination submission begins: May 18, 2021



The Effect of Ethanol Concentrations as The Extraction Solvent on Antioxidant Activity of Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) Leaves Extracts

Ni Putu Ermi Hikmawanti*, Sofia Fatmawati, Anindita Wulan Asri

Faculty of Pharmacy and Science, Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA Klender, East Jakarta, DKI Jakarta, 13460, Indonesia

*ermy0907@uhamka.ac.id

Abstract. Katuk is widely popular with its benefits for breastfeeding mothers. Katuk is also known as a plant with a high antioxidant content. This study aims to determine the effect of using variations in the ethanol concentration as an extracting solvent in producing Total Phenolics Content (TPC) and Total Flavonoids Content (TFC) and their activities in reducing DPPH free radicals. The dried katuk leaves were extracted by cold maceration method. The solvent used for extraction is ethanol with 3 variations in concentration: 50%, 70%, and 96% (absolute ethanol). TPC and TFC were determined by colorimetric method using a UV-Vis spectrophotometer. TPC was stated to be equivalent to gallic acid, while TFC was stated to be equivalent to quercetin. DPPH free radical scavenging activity was measured based on the IC₅₀ value. The results showed that Katuk leaf extract produced from 50% ethanol solvent was able to produce TPC (42.18 ± 0.30 mgGAE / g), TFC (11.18 ± 0.38 mgQE / g) and reduction activity against DPPH radicals (IC₅₀ = 88.33 ± 3.53 ppm). These were higher than ethanol with other concentrations. However, various things need to be considered when using this solvent given the high water content in the solvent.

1. Introduction

Sauropus androgynus (L.) Merr in Indonesia is known as katuk (family Phyllanthaceae). Katuk contains high nutrients in the form of vitamins, minerals, fiber, lipids, carbohydrates, as well as bioactive compounds such as phenolics, tannins, flavonoids, anthocyanins, phytosterols, and so on. Katuk is included in the group of green vegetables with ethnomedicine potential, including as an antitussive, tonic, antipyretic, breast milk facilitator, and others (Petrus, 2013). Katuk was also reported to have aphrodisiac activity (Rusdi et al., 2018) and fertility enhancers in male rats given orally (Hikmawanti et al., 2020). The antioxidant capacity of katuk leaves associated with various pharmacological activities has also been discovered such as antimicrobial, cytotoxic against cancer cells, anti-inflammatory and wound healing (Petrus, 2013; Khoo et al., 2015).

Antioxidants are substances that are used in small concentrations to inhibit and/or to reduce oxidation caused by an oxidant. Plants are a source of natural ingredients with great natural antioxidant potentials, such as phenolic compounds (phenolic acids, flavonoids, tannins, anthocyanins, lignins), carotenoids, vitamins (vitamins A, C, E) and so on. To obtain these antioxidant compounds, an extraction process is necessary (Altemimi et al., 2017). Extraction is a procedure performed to obtain metabolites in plants such as alkaloids, phenolics, flavonoids, glycosides, and others using selective solvents. Solvent



selection is one of the stages of preparation for extraction (Azwanida, 2015). The selectivity of the solvent to extract the target compound from a plant material is related to the polarity compatibility of the two. Ethanol is a solvent that is safe for human consumption as a solvent for natural substances for both food and natural medicinal purposes. Absolute ethanol and aqueous ethanol have been used successfully to extract phenolic derivative antioxidant compounds from natural ingredients with good results (Sultana et al., 2009).

The purpose of this study is to determine the total phenolic content (TPC), total flavonoid levels (TFC), and the antioxidant activity against DPPH radicals from katuk leaf extract produced from three types of variations in the ethanol concentrations as an extracting solvent (50%, 70% and 96%). It is important to discover ethanol concentrations to produce katuk leaf extract with a high content of antioxidant compounds. In addition, with the right solvent, extracts with guaranteed safety and quality can be produced and applied widely.

2. Methodology

Materials

Fresh leaves of katuk were obtained from the Biopharmaca Cultivation Conservation Unit (UKBB), Center for Tropical Biopharmaca Study, LPPM IPB, Bogor, West Java, Indonesia. Plants were determined in the same place. Ethanol as a solvent extraction in analytical grade was obtained from Merck in Darmstadt, Germany. Gallic acid, quercetin, and DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl) were obtained from Sigma-Aldrich Co. in St. Louis, the US.

Extraction

The extraction of dried katuk leaf powder (150.0 g) was carried out by cold maceration method following the Indonesian Herb Pharmacopoeia. The solvent used was ethanol with various concentrations, namely 50%, 70% and 96% (absolute ethanol). Each extraction process was carried out for 24 hours. The filtrate was separated from the residue using Whatmann filter paper. The residue was remacerated 3 times. The filtrate from each solvent was collected and evaporated using a rotary evaporator N-1200 BS series from EYELA (Shanghai, China) at 50 ° C and using a water bath at 50 ° C until a thick extract was obtained (Ministry of Health Republic of Indonesia, 2008).

Determination of the Physico-Chemical Properties of the Extract

The physico-chemical parameters of katuk leaf extract including organoleptic, percentage of extract yield, drying loss, and total ash content were determined according to the procedure stated in the Indonesian Herb Pharmacopoeia (Ministry of Health Republic of Indonesia, 2008).

Phytochemical screening

Phytochemical screening was carried out qualitatively using detection reagents based on the procedures explained in Hanani (2015) and the Indonesian Herb Pharmacopoeia (Ministry of Health Republic of Indonesia, 2008). The classes of compounds identified in the extract included phenolics, flavonoids, tannins, saponins, alkaloids, steroids and triterpenoids.

Determination of Total Phenolics Content (TPC)

TPC determination followed Yang et al., (2007)'s procedure with modification using Folin-Ciocalteu Reagent (FCR) and gallic acid as standard. The calibration curve was made using gallic acid solution with a concentration range of 18-66 ppm. The relationship between the concentration of gallic acid (x) and its absorbance (y) was plotted to produce a linear line equation ($y = bx \pm a$). Each 1000 ppm katuk leaf ethanol extract in ethanol was pipetted as much as 0.3 mL. It was then added 1.5 mL FCR reagent (which has been diluted 1:10) and homogenized. The solution was incubated for 3 minutes, then 1.2 mL of 7.5% Na₂CO₃ solution and water were added to obtain a total volume of 10 mL. The mixture was incubated again for 60 minutes at a room temperature. The absorbance of the extract solution was measured using a UV-Vis Shimadzu UV-1601 Series (Kyoto, Japan) spectrophotometer with a

maximum wavelength of 756.5 nm at room temperature. The absorbance obtained was plotted into a linear line equation and then the TPC was calculated using the formula: phenolic content in solution ($\mu\text{g} / \text{mL}$) multiplied by the dilution factor and the solution volume (mL) and divided by the extract weight (g). TPC was expressed in mg which is equivalent to gallic acid per gram of extract. Each extract was tested with 5 repetitions and reported as mean \pm SD.

Determination of Total Flavonoids Content (TFC)

TFC determination followed the procedure in Chang et al., (2002) with modifications. The standard used was quercetin. Quercetin solutions with a concentration range of 33-129 ppm were used to create a calibration curve. The relationship between the concentration of quercetin (x) and its absorbance (y) was plotted to produce a linear line equation ($y = bx \pm a$). Each ethanol extract of katuk leaves with a concentration of 7500 ppm in methanol was pipetted 0.5 mL. It was then added 1.5 mL of methanol and 0.1 mL of 10% AlCl_3 . 0.1 mL of sodium acetate 1M was added and made sufficient with aquadest up to 5 mL. The solution was incubated for 60 minutes at room temperature. The absorbance of the extract solution was measured with a UV-Vis Shimadzu UV-1601 Series (Kyoto, Japan) spectrophotometer at a wavelength of 434 nm. The absorbance obtained was plotted into a linear line equation and then the TFC was calculated using the formula: the level of flavonoids in solution ($\mu\text{g} / \text{mL}$) multiplied by the dilution factor and the solution volume (mL) and divided by the extract weight (g). TFC was expressed in mg which is equivalent to quercetin per gram of extract. Each extract was tested with 5 repetitions and reported as mean \pm SD.

Antioxidant Activity Testing

The antioxidant activity test of katuk leaf extract was carried out using the DPPH method following the procedure of Wan et al., (2011) with modifications. Quercetin was used as a comparison. The extract was dissolved in methanol and diluted into 5 variations of concentration: 20, 40, 60, 80, and 100 ppm. Quercetin solution was dissolved in methanol and diluted to 2, 4, 6, 8, and 10 ppm. Each variation of the concentration extract solution or quercetin was pipetted 1 mL and was added 1 mL of fresh 0.5 mM DPPH in methanol. The solution was made sufficient with methanol to a total volume of 5 mL. The mixture in a tube lined with aluminum foil paper was incubated for 30 minutes at a room temperature in dark conditions. Blank solution was made from 1 mL DPPH mixed with 4 mL methanol. Furthermore, the absorption was measured at a wavelength of 515.5 nm. Each concentration series of each sample was tested triplo. Results were reported as mean \pm SD. The calculation of the percentage of DPPH radical inhibition used the formula:

$$\text{Inhibition of DPPH (\%)} = \frac{Ab - As}{Ab} \times 100$$

where Ab is the absorbance of the blank and As is the absorbance of the sample.

Data Analysis

Data were analyzed with a one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's test ($\alpha \leq 0.05$).

3. Result and Discussion

The ethanol extract of katuk leaves in this study had organoleptic characteristics with a distinctive odor, thick shape, slightly sweet taste and dark brown color (Table 1). The three extracts had an ash content value in the range 5.74-8.23%, w / w. Ash content describes the amount of inorganic material contained in the katuk leaf extract, both obtained internally by plants and during the extraction process. The percentage of ash content of the katuk leaf ethanol extract obtained in this study (<10%) indicated that the extract had a fairly good quality. Ash content is a contaminant parameter that is difficult to remove in extracts but can still be controlled by proper post-harvest handling of plants and a maintained extraction process (Kunle et al., 2012). The drying shrinkage value describes the amount of compound lost during the 105°C heating process for several hours. The drying shrinkage value of the three katuk

leaf extracts was in the range of 1.96-4.96%, w / w (<5%) (Table 1.). This value range showed that the ethanol extract of katuk leaves had a good quality.

The characteristic parameter of the extract determined was the chemical content of the ethanol extract of katuk leaves. The results of phytochemical screening of the three ethanol extracts of katuk leaves showed the presence of alkaloids, phenolics, flavonoids, tannins, saponins and steroids (Table 2.). Although the ethanol solvent used for extraction was from different concentrations, it was still able to attract the same type of compound class to the katuk leaves. Ethanol has the ability to attract glycosides (Houghton & Raman, 1998), polyacetylenes, sterols (Tiwari et al., 2011), polyphenols, tannins, flavonols, terpenoids, and alkaloids (Azmir et al., 2013).

The choice of ethanol as the extraction solvent was considered to provide many advantages over other organic solvents, which is relatively safer (less toxic). Ethanol is a protic organic solvent with a polarity index value of 5.2 (Synder, 1974; Abarca-Vargas et al., 2016) and a dielectric constant of 24.55. Absolute ethanol contains 0.01% by volume of water (Covington & Dickinson, 1973). The 50% ethanol solvent in this study was able to extract more metabolites from the dry powder of katuk leaves (37.77%) than other ethanol solvents (70% ethanol > 96% ethanol). The ethanol solvent polarity of the three concentrations used in this study was influenced by the high concentration of water contained in ethanol. The more water contained in it, the higher its polarity compared to absolute ethanol (Tiwari et al., 2011). Solvents with high polarity had the ability to extract a class of compounds with a wider polarity. This allowed non-phenolic polar compounds such as carbohydrates and proteins to be dissolved during the extraction process which resulted in increased extraction yields (Do et al., 2014).

Phenolic is a plant-produced metabolite with a distinctive structure in the form of an aromatic that binds to one or more -OH rings. Meanwhile, flavonoids are phenolic derivative pigment metabolites which are widely found mainly in higher plants. One of the quantitative determinations of phenolics and flavonoids can be done colorimetrically using the UV-Vis spectrophotometer technique (Khoddami et al., 2013). This technique is considered relatively simple, fast, and is able to provide satisfactory quantitative results (Cong-cong et al., 2017). Quantitative determination of phenolics was carried out using the Folin-Ciocalteu Reagent (FCR) containing tungsten and molybdenum. The product of this reaction was a blue solution ($(\text{PM}_6\text{W}_{11}\text{O}_{40})^{4-}$) which was absorbed at a wavelength of about 760-765 nm (Prior et al., 2005; Khoddami et al., 2013). FCR has a weakness, namely that this reagent is also able to react with other compounds such as vitamin C, aromatic amines and saccharides (Cong-cong et al., 2017). Meanwhile, the quantitative determination of flavonoids was carried out using 10% AlCl_3 reagent which was carried out under alkaline conditions such as if 7.5-20% Na_2CO_3 was added. The uptake of this reaction product can be measured at a wavelength of about 410-423 nm (Khoddami et al., 2013). Based on the results in Table 3., the best TPC (42.18 mgGAE / g) and TFC (11.18 mgQE / g) were obtained in katuk leaf extract extracted with 50% ethanol (70% ethanol > 96% ethanol) solvent. These results indicated that 50% ethanol solvent is the best solvent for extracting antioxidant compounds from katuk leaves. Petrus (2013) explained that dried katuk leaves had TPC and TFC of 1150.95-2300.00 mgGAE / 100 g and 1040 mgRE / 100 g, respectively.

Antioxidant activity testing in this study was carried out using DPPH radicals. This method is considered relatively inexpensive, effective, efficient and has good sensitivity of a UV-Vis spectrophotometer. DPPH is a free radical with a dark blue color. With the presence of an antioxidant, the antioxidant would donate its Hydrogen atom to the DPPH radical (becoming a DPPH-H). This reaction is characterized by a decrease in absorbance due to DPPH loses its reactivity (Alam et al., 2013; Huyut et al., 2017). The range of quercetin concentrations as a comparison used in this test was 2-10 ppm. Meanwhile, the extract concentration used was 20-100 ppm. The concentration range used was adjusted to the reactivity of each material against the DPPH radical. In addition, other considerations were based on the limitations of the minimum and maximum sample absorption values that can still be read by the UV-Vis spectrophotometer instrument at a wavelength of 515-517 nm (Maesaroh et al., 2018). The antioxidant activity in this study was determined based on the IC_{50} value of the sample. The IC_{50} value showed the sample concentration needed to inhibit 50% of DPPH radicals. This value was obtained from the results of calculations using linear regression analysis. The smaller the IC_{50} value of

an antioxidant, the higher its power to inhibit free radicals (Do et al., 2014). Based on the results in Table 3., the ethanol extract of 50% katuk leaves had the highest antioxidant activity with an IC₅₀ value of 88.33 ppm (70% ethanol > 96% ethanol). This showed that the ethanol extract of 50% katuk leaves had a strong DPPH radical scavenging activity (<100 ppm).

The phenolic and flavonoid contents in katuk leaves play an important role in its activity as a source of antioxidants. The number of hydroxyl groups in a phenolic molecule affects its capacity as an antioxidant. Phenolic has a tendency to donate hydrogen atoms or electrons from its hydroxyl groups to free radicals (Dai & Mumper, 2010). As for flavonoids, the number and location of the aromatic hydroxyl groups in their structure affect their antioxidant capacity (Fernandez-Panchon et al., 2008).

4. Conclusion

Based on this study, the variation in the concentration of ethanol used as the extraction solvent was able to have an effect on the acquisition of phenolic and flavonoid compounds as well as the DPPH free radical scavenging activity from the katuk leaf extract. The 50% ethanol solvent was able to extract high amounts of phenolic and flavonoids from katuk leaf powder using the cold maceration method compared to ethanol solvent with a concentration of 70% and 96%. The best antioxidant activity was also obtained from katuk leaf extract which was extracted using 50% ethanol solvent. Thus, the selection of this solvent was proven to be easy and efficient to use to produce katuk leaf extract which is rich in antioxidants, both as a raw material for functional food and for natural medicine. However, it is necessary to consider again the amount of time and high energy required in the evaporation process, as well as the stability associated with the safety of the extract produced from the solvent so that the quality and quality of the extract are guaranteed.

5. Acknowledgment

The authors would like to thank Dr. apt. Hadi Sunaryo, M.Si. as Dean of the Faculty of Pharmacy and Science, Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA for the support of laboratory facilities which made this research completed properly. Our gratitude are also directed to the Scientific Publication Development and Development Unit, Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA who facilitated the publication of this research.

References

- [1] Abarca-Vargas, R., Malacara, C. F. P., & Petricevich, V. L. (2016). Characterization of chemical compounds with antioxidant and cytotoxic activities in bougainvillea x buttiana holttum and standl, (Var. rose) extracts. *Antioxidants*, 5(45), 1–11.
- [2] Alam, M. N., Bristi, N. J., & Rafiquzzaman, M. (2013). Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 21(2), 143–152.
- [3] Altemimi, A., Lakhssassi, N., Baharlouei, A., & Watson, D. G. (2017). Phytochemicals: Extraction, Isolation, and Identification of Bioactive Compounds from Plant Extracts. *Plants*, 6(42), 1–23.
- [4] Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., ... Omar, A. K. M. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*, 117(4), 426–436.
- [5] Azwanida, N. N. (2015). Medicinal & Aromatic Plants A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants , Principle , Strength and Limitation. *Medicinal and Aromatic Plants*, 4(3), 1–6.
- [6] Chang, C.-C. , Yang, M.-H. , Wen, H.-M. , & Chern, J.-C. (2002). Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3), 178–182.
- [7] Cong-cong, X. U., Bing, W., Yi-qiong, P. , Jian-sheng, T. A. O., & Tong, Z. (2017). Advances in extraction and analysis of phenolic compounds from plant materials. *Chinese Journal of*

- Natural Medicines*, 15(10), 0721–0731.
- [8] Covington, A. K. ., & Dickinson, T. (1973). Introduction and Solvent Properties. In *Physical Chemistry of Organic Solvent Systems* (p. 5). New York: Plenum Press.
- [9] Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15(10), 7313–7352.
- [10] Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S., & Ju, Y.-H. (2014). Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 22, 296–302.
- [11] Fernandez-Panchon, M. S., Villano, D., Troncoso, A. M., & Garcia-Parrilla, M. C. (2008). Antioxidant Activity of Phenolic Compounds: From In Vitro Results to In Vivo Evidence. *Critical Review in Food Science and Nutrition*, 48, 649–671.
- [12] Hanani, E. (2015). *Analisis Fitokimia (In Bahasa)*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- [13] Hikmawanti, N. P. E., Rusdi, N. K., & Yulida, S. (2020). Evaluation of sperm quality in male rats treated with *Sauropus androgynus* (L.) Merr. leaf fractions. *Pharmaciana*, 10(2), 193–200.
- [14] Houghton, P. J. ., & Raman, A. (1998). Laboratory Handbook for the Fractionation of Natural Extracts. In *Laboratory Handbook for the Fractionation of Natural Extracts*. London: Springer Science Business Media.
- [15] Huyut, Z., Beydemir, F. ., & Gülçin, E. (2017). Antioxidant and Antiradical Properties of Selected Flavonoids and Phenolic Compounds. *Biochemistry Research International*, 2017, 1–10.
- [16] Khoddami, A., Wilkes, M. A., & Roberts, T. H. (2013). Techniques for analysis of plant phenolic compounds. *Molecules*, 18(2), 2328–2375.
- [17] Khoo, H. E., Azlan, A., & Ismail, A. (2015). *Sauropus androgynus* Leaves for Health Benefits: Hype and the Science. *The Natural Products Journal*, 5, 115–123.
- [18] Kunle, O. F. ., Egharevba, H. O. ., & Ahmadu, P. O. (2012). Standardization of Herbal Medicines - A Review. *International Journal of Biodiversity and Conservation*, 4(3), 101–112.
- [19] Maesaroh, K. ., Kurnia, D. ., & Anshori, J. A. (2018). Perbandingan Metode Uji Aktivitas Antioksidan DPPH, FRAP, dan FIC terhadap Asam Askorbat, Asam Galat dan Kuersetin. *Chimica et Natura Acta*, 6(2), 93–100.
- [20] Ministry of Health Republic of Indonesia. (2008). *Farmakope Herbal Indonesia (Indonesian Herb Pharmacopoeia)* (1st Ed). Jakarta: Ministry of Health Republic of Indonesia.
- [21] Petrus, A. J. A. (2013). *Sauropus androgynus* (L.) Merrill - a potentially nutritive functional leafy-vegetable. *Asian Journal of Chemistry*, 25(17), 9425–9433.
- [22] Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 4290–4302.
- [23] Rusdi, N. K., Hikmawanti, N. P. E., Maifitrianti., Ulfah, Y. S., & Annisa, A. T. (2018). Aktivitas Afrodisiaka Fraksi dari Ekstrak Etanol 70% Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr) Pada Tikus Putih Jantan. *Pharmaceutical Sciences and Research (PSR)*, 5(3), 123–132.
- [24] Sultana, B., Anwar, F., & Ashraf, M. (2009). Effect of Extraction Solvent/Technique on the Antioxidant Activity of Selected Medicinal Plant Extracts. *Molecules*, 14, 2167–2180.
- [25] Synder, L. R. (1974). in The Netherlands. *Journal of Chromatography*, 92, 223–230.
- [26] Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., & Kaur, H. (2011). Phytochemical screening and Extraction: A Review. *Internationale Pharmaceutica Scientia*, 1(1), 98–106.
- [27] Wan, C., Yu, Y., Zhou, S., Liu, W., Tian, S., & Cao, S. (2011). Antioxidant activity and free radical-scavenging capacity of *Gynura divaricata* leaf extracts at different temperatures. *Pharmacognosy Magazine*, 7(25), 40–45.
- [28] Yang, J., Paulino, R., Janke-Stedronsky, S., & Abawi, F. (2007). Free-radical-scavenging activity and total phenols of noni (*Morinda citrifolia* L.) juice and powder in processing and storage. *Food Chemistry*, 102(1), 302–308.

Table 1. Characteristics of Katuk Leaf Ethanol Extract

No	Parameter	Katuk Leaf Extract		
		Ethanol 50%	Ethanol 70%	Ethanol 96%
1	Organoleptis Organoleptic			
	Smell	Typical	Typical	Typical
	Shape	Thick extract	Thick extract	Thick extract
	Taste	Little sweet	Little sweet	Little sweet
	Color	Dark brown	Dark brown	Dark brown
2	Extraction Yield (% w/w)	37.77 ± 0.93	36.26 ± 3.38	33.55 ± 2.77
3	Ash content (% w/w)	5.74 ± 0.48	7.13 ± 1.08	8.23 ± 0.61
4	Shrink drying (% w/w)	4.96 ± 1.19	1.96 ± 0.75	4.06 ± 0.82

Note: Data presented are mean (n = 5) ± SD.

Table 2. Results of Phytochemical Screening of Ethanol Extract of Katuk Leaves

No	Compound Group	Katuk Leaf Extract		
		Ethanol 50%	Ethanol 70%	Ethanol 96%
1	Alkaloids	+	+	+
2	Phenolic	+	+	+
3	Flavonoids	+	+	+
4	Tannin	+	+	+
5	Saponins	+	+	+
6	Steroids	+	+	+
7	Terpenoids	-	-	-

Description: (+) = detected compound identified; (-) = no identified compound was detected

Table 3. Total Phenolic and Flavonoid Levels of Katuk Leaf Ethanol Extract

Parameter	Katuk Leaf Extract		
	Ethanol 50%	Ethanol 70%	Ethanol 96%
TPC (mgGAE/g)	42.18 ± 0.30*	25.33 ± 0.13	16.25 ± 0.16
TFC (mgQE/g)	11.18 ± 0.38*	8.87 ± 0.14	5.68 ± 0.34
IC₅₀ (ppm)	88.33 ± 3.53	90.04 ± 1.00	95.73 ± 2.95*

Note: Data presented are mean (n = 5) ± SD. * It differs significantly from other extracts ($\alpha = 0.05$).