



Determination of Total Phenolic Compounds and SPF (Sun Protection Factor) Value of Methanol Extract & Fraction Brotowali Leaves (*Tinospora crispa* L.)

(Penetapan Kadar Fenolik Total dan Nilai SPF (Sun Protection Factor) Ekstrak Metanol dan Fraksi Daun Brotowali (*Tinospora crispa* L.))

Zuraida Sagala¹ *, Nurma Fitria², Riong Seulina Panjaitan³

Fakultas Farmasi, Universitas 17 Agustus 1945 Jakarta, Jakarta Utara, Indonesia, 14350.

*E-mail: zoerasagala@gmail.com

Received: 10th July 2023; Accepted: 20th July 2023; Published: 27th July 2023

Abstract: Flavonoid is one of the compounds that are important for the body because it has a function as an antidote to free radicals by overcoming and preventing the occurrence of oxidative stress conditions are antioxidants. Phenolic compounds are known to have antioxidant activity due to the substitution of hydroxy groups at the ortho and para positions to the –OH and –OR groups. Phenolic compounds are known to have various pharmacological activities, one of that is photoprotective which useful for protecting the skin from the dangers of UV exposure. Brotowali contains secondary metabolites such as alkaloids, phenolics, steroids, and tannins. The presence of these compounds indicates that brotowali has the ability to inhibit free radical compounds. This study aims to determine the total phenolic levels and SPF (*Sun Protection Factor*) in methanol extract and leaf fraction of brotowali (*Tinospora crispa* L.). The research methods include maceration, fractionation, phytochemical screening test, specific and non-specific parameter testing, assay by Folin-Ciocalteu method using gallic acid as a standard, and SPF (*Sun Protection Factor*) value. Based on the research results obtained, the ethyl acetate fraction of brotowali leaves contains phenolic compounds of 675.6522 mg GAE/gram sample with the highest SPF value at a concentration of 1000ppm of 48.79.

Keywords: Brotowali (*Tinospora crispa* L.) ; total phenolic ; SPF (*Sun Protection Factor*)

Abstrak: Flavonoid merupakan salah satu senyawa yang penting bagi tubuh karena memiliki fungsi sebagai penangkal radikal bebas dengan mengatasi dan mencegah terjadinya kondisi stress oksidatif adalah antioksidan . Senyawa fenolik diketahui merupakan senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan karena adanya substitus gugus hidroksi pada posisi orto dan para terhadap gugus –OH dan –OR. Senyawa fenolat diketahui memiliki berbagai aktivitas farmakologi, salah satunya adalah fotoprotektif yang berguna untuk melindungi kulit terhadap bahaya efek dari

paparan sinar UV. Brotowali teridentifikasi memiliki kandungan metabolit sekunder antara lain alkaloid, fenolik, steroid, dan tannin. Adanya senyawa tersebut menunjukkan bahwa brotowali memiliki kemampuan dalam menghambat senyawa radikal bebas. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan penetapan kadar fenolik total dan nilai SPF (*Sun Protection Factor*) pada ekstrak metanol dan fraksi daun brotowali (*Tinospora crispa* L.). Metode penelitian ini meliputi maserasi, fraksinasi, skrining fitokimia, pengujian parameter spesifik dan non spesifik, penetapan kadar fenolik total dengan metode *folin ciocalteau* menggunakan standar asam galat, dan penentuan nilai SPF (*Sun Protection Factor*). Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, fraksi etil asetat daun brotowali memiliki kandungan senyawa fenolik sebesar 675,6522 mg GAE/gram sampel dengan nilai SPF tertinggi pada konsentrasi 1000ppm sebesar 48,79.

Kata kunci: Brotowali (*Tinospora crispa* L.), total fenol, SPF (*Sun Protection Factor*)

1. PENDAHULUAN

Salah satu senyawa yang penting bagi tubuh karena memiliki fungsi sebagai penangkal radikal bebas dengan mengatasi dan pencegahan terjadinya kondisi stress oksidatif adalah antioksidan [1,2]. Radikal bebas merupakan atom yang pada strukturnya terdapat satu atau lebih elektron yang tidak memiliki pasangan pada orbital paling luar dan bersifat sangat reaktif yang selalu mencari pasangan elektron agar mampu berikatan dalam penstabilan diri [2]. Senyawa radikal bebas ini jika berinteraksi dengan tubuh dapat menyebabkan berbagai penyakit diantaranya jantung, penuaan dini, dan kanker [3].

Sistem pertahanan endogen didalam tubuh manusia berfungsi sebagai penangkal radikal bebas terutama dalam proses sel normal dalam melakukan metabolisme dan terjadinya radang. Radikal bebas dapat mengalami peningkatan jumlah akibat polusi lingkungan (adanya asap rokok yang mengakibatkan tidak optimalnya sistem pertahanan tubuh), radiasi, dan stress. Maka dari itu, tubuh akan memerlukan zat antioksidan dari luar untuk penambahan dalam melakukan pencegahan terhadap serangan radikal bebas [4].

Bahan alam atau tanaman di Indonesia yang memiliki kandungan senyawa fitokimia serta peranan sebagai antioksidan diantaranya temulawak (*Curcuma xanthorriza*), mengkudu atau pace (*Morinda citrifolia* L.), daun dewa (*Gynura divaricate*), pasak bumi (*Eurycoma longifolia* Jack.), brotowali (*Tinospora crispa* L.), dan lidah buaya (*Aloe vera*) [5].

Brotowali (*Tinospora crispa* L.) menjadi tanaman yang memiliki berbagai kandungan senyawa kimia terutama pada bagian batang, daun, dan akar. Brotowali dapat berkhasiat sebagai anti malaria, anti piretika, anti diabetes, anti inflamasi, dan analgetik [6].

Brotowali teridentifikasi memiliki kandungan metabolit sekunder antara lain alkaloid, karotenoid, steroid, senyawa fenolik, dan triterpenoid. Senyawa golongan fenolik seperti apigenin, N-cis feruloyltyramine, N-trans feruloyltyramine, secoisolariciresinol, dan bergenin yang berguna sebagai antiradikal alami terdapat pada tanaman brotowali [2]. Adanya senyawa tersebut menunjukkan bahwa brotowali

memiliki kemampuan dalam menghambat senyawa radikal bebas. Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan pengujian daun brotowali, hasil menunjukkan bahwa ekstrak kasar metanol daun brotowali bersifat antioksidan dengan nilai IC50 sebesar 184,76 ppm. Nilai IC50 merupakan parameter yang digunakan untuk melihat aktivitas antioksidan suatu sampel yang mampu meredam 50% aktivitas radikal DPPH (2,2-difenil-1- pikrilhidrazil) [3].

Senyawa fenol memiliki kaitan erat dengan efek antioksidan. Senyawa fenolat diketahui memiliki berbagai aktivitas farmakologi, salah satunya adalah fotoprotektif [7]. Fotoprotektif berfungsi sebagai perlindungan kulit terhadap bahaya efek dari paparan sinar UV. [8] UV-A berkontribusi dalam berkurangnya elastisitas kulit, bertambahnya keriput dan peningkatan senyawa radikal bebas yang menyebabkan perubahan akut maupun kronis pada kulit, sedangkan sinar UV-B dapat menyebabkan perubahan berupa kulit terbakar, photoageing, eritema dan inflamasi [7]. Aplikasi topikal produk tabir surya merupakan salah satu cara untuk memblokir radiasi UV pada epidermis kulit [8]. Tabir surya didalam sediaan kosmetik biasanya ditandai dengan sebuah label yang menyatakan kekuatan SPF (*Sun Protection Factor*) tertentu. Kisaran nilai SPF yaitu 2-60 dan menyatakan lama sediaan tersebut dalam kemampuannya melindungi dan menghalangi sinar UV yang dapat membuat kulit terbakar [9].

Karena pentingnya fungsi senyawa fenolik sebagai antioksidan, maka peneliti tertarik melakukan pengujian untuk mengetahui kadar fenolik total serta nilai SPF (Sun Protection Factor) yang terkandung dalam ekstrak metanol dan fraksi etil asetat dari tanaman brotowali. Dengan demikian, tanaman brotowali dapat lebih maksimal dalam pemanfaatannya sebagai alternatif pengobatan herbal.

2. HASIL DAN PEMBAHASAN

Kandungan Fitokimia Ekstrak Metanol Daun Brotowali, Fraksi n-heksana Daun Brotowali, Dan Fraksi Etil Asetat Daun Brotowali

Pada penelitian sebelumnya dengan etanol sebagai pelarut bersifat polar atau sejenis dengan metanol yang digunakan untuk ekstraksi daun brotowali, hasil uji skrining fitokimia menunjukkan positif pada keseluruhan uji yaitu flavonoid, saponin, tannin, dan saponin[15]. Sedangkan pada penelitian lainnya dengan penggunaan tiga sampel yang sama yakni ekstrak metanol, fraksi n-heksana, dan fraksi etil asetat menunjukkan bahwa pada uji flavonoid hasil seluruhnya negatif, uji tannin dan fenol menunjukkan hasil positif pada ekstrak metanol dan fraksi etil asetat, serta uji alkaloid menunjukkan hasil positif pada seluruh sampel [3]. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan metabolit sekunder cenderung bersifat polar atau semi polar.

Tabel 2. Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Daun Brotowali, Fraksi n-heksana daun brotowali, Fraksi etil asetat daun brotowali

Zat	Hasil Pengamatan		
	Ekstrak Metanol	Fraksi N-Heksana	Fraksi Etil Asetat
Flavonoid	(+) Merah jingga	(-) Kuning bening	(+) Merah jingga
Saponin	(+) Terbentuk buih	(-) Tidak terbentukbuih	(-) Tidak terbentukbuih
Tannin	(+) Biru kehitaman	(+) Hijau kehitaman pudar	(+) Biru kehitaman
Fenol	(+) Hijau kehitaman	(+) Endapan merah coklat	(+) Hijau kehitaman
Alkaloid	(+) Endapan merah kecokelatan	(+) Endapan merah coklat	(+) Endapan merah kecokelatan

Keterangan : + = Positif (Terkandung) , - = Negatif (Tidak Terkandung)

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat

Penentuan panjang gelombang maksimum menggunakan baku asam galat karena merupakan nilai yang digunakan terhadap uji fenolik total sebagai nilai ekivalen kandungan fenolik dari tanaman yang diuji [16]. Maka dari itu, pada penelitian ini digunakan konsentrasi tengah untuk mendapatkan nilai panjang gelombang maksimum yang nantinya hasil persamaan regresi akan digunakan untuk perhitungan sampel. Dari hasil pengukuran serapan maksimum larutan standar Asam Galat yaitu 400 ppm yang menjadi nilai konsentrasi tengah ditambahkan 15,8 mL Aquadest, 1 mL reagen *Folin Ciocalteu* dan 3 mL Na_2CO_3 20% dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis diperoleh serapan maksimum pada panjang gelombang 735 nm.

Absorbansi Standar Asam Galat

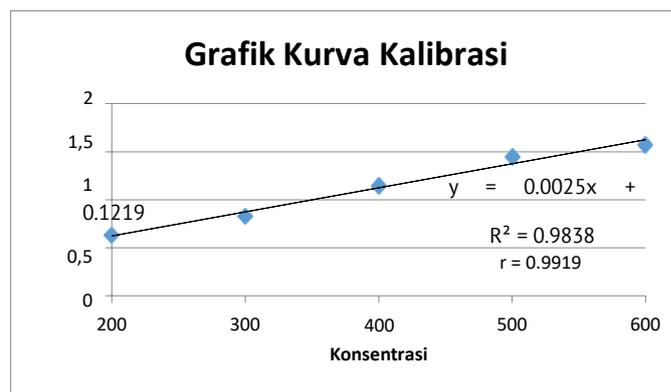
Penentuan seri konsentrasi dilakukan uji pendahuluan sebelumnya dan melihat penelitian sebelumnya terkait batas atas dan batas bawah konsentrasi yang kemudian dilakukan range konsentrasi. Pada penelitian sebelumnya, menggunakan seri konsentrasi yang variatif antara 50 ppm – 700 ppm dimana uji yang dilakukan adalah penetapan aktivitas antioksidan [3]. Berdasarkan hasil yang diperoleh, pengukuran absorbansi sejumlah standar asam galat sebagai baku untuk uji fenolik total menggunakan seri konsentrasi 200, 300, 400, 500, dan 600 ppm pada panjang gelombang 735 nm memperoleh persamaan regresi $y = 0.0025x + 0.1219$ dengan $R^2 = 0.983$ dan $r = 0.9919$ (Gambar 1).

Tabel 3. Absorbansi Asam Galat

Konsentrasi	As1	As2	As3	As Rata-rata
-------------	-----	-----	-----	--------------

200 ppm	0.628	0.627	0.625	0.6267
300 ppm	0.831	0.830	0.827	0.8293
400 ppm	1.146	1.141	1.145	1.144
500 ppm	1.439	1.449	1.447	1.445
600 ppm	1.554	1.577	1.580	1.5703

Keterangan* : As = Absorbansi (Tabel 3. Hasil absorbansi standar asam galat pada panjang gelombang 735 nm.)



Gambar 1. Grafik Kurva Kalibrasi Standar Asam Galat

Absorbansi Ekstrak Terhadap Kandungan Fenolik Total

Pada penentuan kadar total fenolat yang terdapat dalam ekstrak dan fraksi daun brotowali dilakukan dengan melakukan plot absorbansi sampel pada persamaan regresi linear kurva kalibrasi standar asam galat yang sudah diperoleh sebelumnya ($y = 0.0025x + 0.1219$). Nilai total fenolat tertinggi hingga terendah berturut-turut terdapat pada fraksi etil asetat daun brotowali 675,6522 mg GAE/gram sampel, ekstrak daun brotowali yaitu 607,2441 mg GAE/gram sampel, dan fraksi n- heksana daun brotowali 557,9588 mg GAE /gram sampel. Dari penelitian uji aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH hasil menunjukkan pada ekstrak etanol batang brotowali dapat menangkap $17,35 \% \pm 0,56\%$ dan fraksi n-heksana $14,20\% \pm 4,21\%$. Sedangkan hasil tertinggi adalah fraksi etil asetat karena pada konsentrasi yang sama 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ mampu menangkap $53,57 \% \pm 7,55\%$ radikal DPPH. Dimana hal ini menyatakan bahwa hasil aktivitas antioksidan tertinggi berturut turut juga diperoleh dari fraksi etil asetat, diikuti oleh ekstrak etanolik, dan fraksi n-heksana [2]. Selain itu, pada penelitian lain dengan sampel yang sama yaitu ekstrak metanol daun brotowali, fraksi n-heksana daun brotowali, dan fraksi etil asetat daun brotowali hasil menunjukkan terdapat perbedaan yakni ekstrak metanol daun brotowali memiliki nilai IC50 paling baik diikuti oleh fraksi etil asetat dan kemudian fraksi n-heksana. Seperti sudah disebutkan sebelumnya bahwa nilai IC50 merupakan parameter yang digunakan untuk melihat aktivitas antioksidan suatu sampel yang mampu meredam 50% aktivitas radikal DPPH (2,2- difenil-1-pikrilhidrazil) dan erat kaitannya dengan senyawa fenol.[3]

Tabel 4. Hasil Kadar Fenolik Total Ekstrak Metanol dan Ekstrak Fraksi Daun Brotowali

Sampel	As 1	As 2	As 3	As rata-rata	Total Fenolik mgGAE/g sampel
Ekstrak Metanol	1.621	1.681	1.691	1.6643	607,2441
Fraksi n-heksana	1.511	1.551	1.568	1.5433	557,9588
Fraksi etil asetat	1.821	1.817	1.856	1.8313	675,6522

Keterangan : As = Absorbansi.

Hasil Penentuan Nilai SPF

Pengujian nilai SPF menggunakan alat spektrofotometri menghasilkan nilai SPF tertinggi sampai terendah berturut-turut yaitu pada fraksi etil asetat daun brotowali, ekstrak daun brotowali, dan fraksi n-heksana daun brotowali. Nilai SPF pada fraksi etil asetat daun brotowali terdapat pada konsentrasi 200 ppm sebesar 10.50 termasuk kategori perlindungan maksimal, dan konsentrasi 400, 600, 800, 1000 ppm berturut-turut memiliki nilai SPF 20.49, 31.47, 42.46, dan 48,79 dimana dikategorikan dalam perlindungan ultra karena nilai SPFnya diatas 15 . Untuk nilai SPF pada ekstrak metanol daun brotowali konsentrasi 200 ppm sebesar 7.53 termasuk kategori perlindungan ekstra, konsentrasi 400 ppm sebesar 14.22 termasuk kategori perlindungan maksimal, dan konsentrasi 600, 800, dan 1000 ppm berturut-turut sebesar 21.23, 28.30, dan 34.26 yang termasuk kategori perlindungan ultra. Pada fraksi n-heksana daun brotowali memiliki nilai SPF yang lebih rendah dibandingkan fraksi etil asetat dan ekstrak metanol daun brotowali yaitu konsentrasi 200 ppm sebesar 5.61 yang dikategorikan dalam perlindungan sedang, konsentrasi 400 ppm sebesar 11.04 yang termasuk kategori perlindungan maksimal, dan konsentrasi 600 ppm, 800 ppm, 1000 ppm berturut-turut sebesar 16.46, 21.34, dan 26.01 yang termasuk kategori perlindungan ultra.

Menurut FDA (Food and Drug Administration) nilai SPF yang dianjurkan sebagai nilai minimal dalam kandungan sediaan tabir surya yang memiliki proteksi dari sinar UVB yaitu SPF 15 dan pada orang yang memiliki kulit cerah direkomendasikan menggunakan sediaan tabir surya dengan nilai SPF lebih tinggi yaitu 30 sampai dengan 50 dikarenakan orang dengan kulit cerah lebih mudah menangkap energi lebih banyak dari sinar matahari dibandingkan orang dengan kulit gelap dalam kondisi yang sama[17]. Dengan acuan data yang telah diperoleh pada sediaan ekstrak metanol, fraksi n-heksana, dan fraksi etil asetat memiliki nilai SPF yang baik karena nilai mayoritas yang diperoleh sesuai dengan teori standar sediaan tabir surya yang dianjurkan oleh FDA.

Tabel 5. Hasil Nilai SPF Ekstrak Metanol dan Ekstrak Fraksi Daun Brotowali

Nilai SPF	200 ppm	400 ppm	600 ppm	800 ppm	1000 ppm

Ekstrak Metanol	7.53	14.22	21.23	28.30	34.26
Fraksi Heksana	5.61	11.04	16.46	21.34	26.01
Fraksi EtilAsetat	10.50	20.49	31.47	42.46	48.79

Senyawa fenol memiliki kaitan erat dengan efek antioksidan serta senyawa fenolat diketahui memiliki berbagai aktivitas farmakologi salah satunya adalah fotoprotektif dan terkandung dalam SPF [7,8]. Nilai SPF yang dihasilkan pada masing-masing sediaan berbanding lurus dengan nilai total fenol yang dihasilkan bahwa semakin tinggi nilai total fenol atau semakin banyak kandungan senyawa fenolik di dalam sediaan, maka nilai SPF semakin tinggi.

Daun brotowali mengandung berbagai senyawa kimia, terutama kandungan alkaloidnya dan suatu kalium yang disebut boorsma [18,19]. Alkaloid dapat berfungsi sebagai antioksidan dimana efeknya disebabkan adanya senyawa fenol dan memiliki kandungan atom nitrogen di dalam strukturnya, atom tersebut memiliki pasangan elektron bebas yang berfungsi untuk meredam aktivitas radikal bebas di dalam tubuh. Senyawa radikal bebas ini di dalam tubuh mampu merusak asam lemak tak jenuh ganda pada membrane sel yang kemudian akan menyebabkan dinding sel menjadi rapuh. Oleh sebab itu, salah satu peran atom nitrogen dapat dikaitkan dengan adanya senyawa alkaloid [3]. Selain itu, flavonoid juga diduga dapat bekerja sebagai bahan aktif pada tabir surya, flavonoid merupakan antioksidan kuat dan dapat mengikat ion logam yang diduga mampu mencegah efek bahaya dari sinar UV atau minimal mampu mengurangi terjadinya kulit yang rusak [20]. Berdasarkan hal tersebut, perbedaan nilai total fenol dan SPF pada fraksi n-heksana terjadi diduga karena pelarut n-heksana bersifat non polar yang akhirnya tidak optimal dalam menarik kandungan kimia didalam tanaman brotowali sehingga beberapa komponen metabolit sekunder tersebut tidak ada dan menyebabkan hasil nilai total fenolik dan SPF yang diperoleh rendah.

3. METODE

Prosedur Penelitian

Preparasi Simplisia

Sampel berupa daun brotowali sebanyak 500 gram yang bersih dan bebas dari kotoran dicuci dengan air bersih dan dikering-anginkan di udara terbuka dalam ruangan. Daun brotowali dirajang untuk memperluas permukaan simplisia. Simplisia kerin

g yang telah dirajang lalu ditimbang bobot akhirnya [3].

Preparasi Ekstrak

Pembuatan ekstrak menggunakan metode maserasi yang dilakukan dengan merendam simplisia kedalam pelarut dengan perbandingan 1:3 (275 gram simplisia dalam 825 mL pelarut) dilakukan selama 3 hari. Kemudian residu di remaserasi selama 2 hari dan dilakukan pengulangan 2 kali menggunakan jumlah pelarut yang

sama dengan sebelumnya. Seluruh hasil maserasi kemudian diuapkan pelarutnya menggunakan rotary evaporator pada suhu 40°C hingga didapatkan ekstrak kental [3].

Preparasi Fraksi

Sebanyak \pm 10 gram ekstrak metanol yang diperoleh ditambahkan aquadestilata sebanyak 100mL hingga terbentuk suspensi dan difraksinasi cair-cair. Ekstrak metanol dituang kedalam corong pisah kemudian ditambahkan pelarut n-heksana dengan perbandingan 1:1, lalu ditunggu hingga memisah menjadi dua lapisan.

Hasil dari fraksi n-heksana kemudian ditampung ke dalam erlenmeyer dan digabungkan, sedangkan fraksi etanol difraksinasi kembali dengan etil asetat dengan perbandingan 1:1.

Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol dan Fraksi Daun Brotowali

Identifikasi Flavonoid

Satu gram ekstrak dan fraksi yang akan diuji ditambahkan etanol 95% dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu panaskan dan pipet lapisan atas lalu tambahkan HCl pekat 2N dan serbuk Mg. Hasil dikatakan positif jika terbentuk warna merah [10].

Identifikasi Saponin

Sampel sebanyak 500mg dimasukkan kedalam tabung reaksi lalu tambahkan 10 mL air panas, didinginkan dan kemudian dikocok kuat selama 10 detik (jika zat yang diperiksa berupa sediaan cair, encerkan 1 mL sediaan yang diperiksa dengan 10 mL air dan kocok kuat-kuat selama 10 menit. Hasil positif jika terbentuk buih yang mantap setinggi 1 – 10 cm selama tidak kurang dari 10 menit. Pada penambahan satu tetes HCl 2 N, buih tidak akan hilang [10].

Identifikasi Fenol

Sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ke dalam tabung reaksi ditambahkan 2 tetes FeCl₃ 5% , jika terbentuk warna kehijauan menunjukkan adanya fenol [11].

Identifikasi Tanin

Sampel diencerkan dengan 2 mL air. Ditambahkan 3 tetes larutan besi (III) klorida 1%. Hasil positif ditandai dengan warna biru kehitaman (untuk tanin galat) atau hijau kehitaman (untuk tanin katekol) [3].

Identifikasi Alkaloid

Satu mL sampel ditambahkan pereaksi wagner (reaksi positif jika terbentuk endapan coklat) [12].

Preparasi Sampel

Pengujian Kadar Fenolik Total Sampel Uji Dengan Metode Folin Ciocalteau

Pengujian kandungan fenolik total pada ekstrak dan fraksi dilakukan dengan menggunakan pereaksi Folin-Ciocalteau dengan standar asam galat dilakukan dengan tahapan sebagai berikut:

Pembuatan Larutan Na₂CO₃ 20% b/v

Larutan dibuat dengan cara melarutkan 10 gram Na₂CO₃ dengan 50 ml aquadest.

Penetapan Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat

Dilakukan pembuatan larutan standar asam galat dengan konsentrasi 400ppm diukur serapannya pada panjang gelombang 380-780 nm. Hasil yang diperoleh dibuat dalam bentuk kurva dengan sumbu y merupakan absorbansi dan sumbu x merupakan panjang gelombang cahaya kemudian dilakukan penentuan panjang gelombang yang menunjukkan serapan maksimum.

Pembuatan Kurva Kalibrasi

Dilakukan pembuatan larutan induk asam galat dengan konsentrasi 1000ppm. Larutan induk tersebut dibuat konsentrasi 200,300,400,500, dan 600ppm. Dari masing-masing konsentrasi diatas dipipet 0,2mL ditambah 15,8mL aquadest+ 1mL reagen *folin ciocalteau*. Didiamkan selama 8menit tambah 3mL larutan Na₂CO₃ 20 % kocok homogen diamkan selama 1jam pada suhu kamar. Selanjutnya dilakukan pengukuran dengan spektrofotometer sinar tampak pada panjang gelombang maksimum yang sudah ditentukan sebelumnya. Kurva standar diperoleh dari hubungan antara konsentrasi asam galat (mg/L) dengan absorbansi dengan persamaan regresi $y = bx + a$.

Pengukuran Serapan Sampel

Dilakukan pembuatan larutan ekstrak dan fraksi. Ditimbang masing-masing 100mg ekstrak brotowali, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat kemudian dilarutkan sampai 50mL dengan masing- masing pelarut sehingga konsentrasinya 2000ppm. Kemudian dipipet 25mL dan dilarutkan dengan masing-masing pelarut sampai volumenya 50mL sehingga diperoleh kadar 1000ppm. Dari konsentrasi 1000ppm dipipet 0,2 mL larutan sampel kemudian tambahkan 15,8mL aquadest, lalu tambahkan 1mL reagen *folin ciocalteau*. Diamkan selama 8menit kemudian ditambahkan 3mL Na₂CO₃ 20 % kedalam campuran, diamkan larutan selama 1jam pada suhu kamar kemudian diukur serapannya dengan spektrofotometri UV-VIS pada panjang gelombang serapan maksimum yang akan memberikan kompleks biru. Lakukan 3 kali pengulangan sehingga hasil kadar fenolik total yang diperoleh didapat sebagai mg GAE/ g sampel.

Penentuan Nilai SPF (Sun Protection Factor)

Penentuan nilai SPF dengan cara in vitro menggunakan spektrofotometri UV/Vis. Nilai absorbansi diukur pada panjang gelombang 290-320 nm dan pada interval 5 nm dengan ketebalan $A = 1$ cm. Pelarut yang digunakan yaitu metanol.

Pembuatan Pengenceran Ekstrak

a. Pembuatan larutan induk (1000 ppm)

Larutkan 0,1 g ekstrak dan fraksi daun brotowali menggunakan pelarut secukupnya, dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan tambahkan pelarut ad 100 mL.

b. Dilakukan pengenceran ekstrak dengan konsentrasi 200ppm, 400ppm, 600ppm, dan 800ppm.

Nilai SPF Ditentukan Dengan Rumus [13]:

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

Keterangan:

CF = Faktor Korelasi (10), EE = Efisiensi Eritema, I = Spektrum Simulasi Sinar Surya, dan Abs= nilai serapan yang terbaca.

Normalized product function, Digunakan pada Kalkulasi SPF

Spektrum simulasi sinar surya yang menimbulkan Efisiensi Eritermal (EE). dimana Nilai EE X I adalah konstan, dimana nilainya sudah ditetapkan [14].

Tabel 1. Tabel panjang gelombang dengan nilai EE x I untuk Kalkulasi SPF

λ (nm)	EE X I
290	0,015
295	0,0817
300	0,2784
305	0,3278
310	0,1864
315	0,0839
320	0,0180

KESIMPULAN

Nilai total fenol tertinggi hingga terendah berturut turut pada fraksi etil asetat daun brotowali, ekstrak metanol daun brotowali, dan fraksi n-heksana daun brotowali sebesar 675,6522 mg GAE/gram sampel, 607,2441 mg GAE/gram sampel, 557,9588 mg GAE /gram sampel serta nilai SPF tertinggi pada konsentrasi 1000ppm fraksi etil asetat sebesar 48,79 yang termasuk kategori perlindungan ultra. Hal ini dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi nilai total fenol atau semakin banyak kandungan senyawa fenolik di dalam sediaan, maka nilai SPF semakin tinggi.

DAFTAR RUJUKAN

1. Werdhasari A. *Peran Antioksidan Bagi Kesehatan*, 3rd ed.; Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan Balitbangkes: Kemenkes RI, 2014.

2. Irianti T; Puspitasari A; Suryani E. Aktivitas Penangkapan Radikal 2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil (L .) Miers) dan Fraksi-Fraksinya. *Majalah Obat Tradisional* 2011,16(3), hal. 139–146.
3. Puspitasari L; Rijai L; Herman. Identifikasi Golongan Metabolit Sekunder dan Aktivitas Antioksidan Eksstrak Daun Brotowali (*Tinospora tuberculata Beumee*). *Sainstech Farma* 2018,11(1), hal. 18–24.
4. Wahdaningsih S; Prawita Setyowati E; Wahyuono S. Aktivitas Penangkap Radikal Bebas dari Batang Pakis (*Alsophila glauca* J. Sm). *Majalah Obat Tradisional* 2011,16(3).
5. Kristanto A; Mustaqim W A; Suhartono E QN. *Skrining Tanaman Obat yang Berpotensi Sebagai Antioksidan In Vitro*, 3rd ed.; Mutiara Med: 2004, hal.4.
6. Suliswinarni. *Manfaat Brotowali*, 3rd ed.; Mutiara Aksara: 2019.
7. Yuliatwati KM; Sadiyah ER; Solehati R. Pengujian Aktivitas Tabir Surya Ekstrak dan Fraksi Daun Kopi Robusta (*Coffea canephora*). *Indonesian J Pharm Sci Technol*. 2019,1(1).
8. Saewan N; Jimtaisong A. Natural products as photoprotection. *J Cosmet Dermatol* 2015, 1–17.
9. Isfardiyana SH; Safitri SR. Pentingnya melindungi kulit dari sinar ultraviolet dan cara melindungi kulit dengan sunblock buatan sendiri. *Jurnal Inovasi dan Kewirausahaan* 2014, 3(2), hal. 126–133.
10. Departemen Kesehatan RI. *Materia Medika Indonesia Jilid VI*, 3rd ed.; Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan: Jakarta, 1995.
11. Harbone J. Metode Fitokimia, *Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*, 3rd ed. II; ITB Press: Bandung, 1987.
12. Pratama Putra I; Dharmayudha A; Sudimartini L. Identifikasi Senyawa Kimia Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* L) di Bali. *Indonesia Med Veterinus* 2017,5(5), hal. 464– 473.
13. Lolo WA; Sudewi S; Edy HJ. Determination Sun Protecting Factor (SPF) Of Krokot Herbs Extract (*Portulacaoleracea* L .) 2017, hal. 1–5.
14. Dutra EA; Almança D; Kedor- ERM; Inês M; Miritello R. Determination of sun protection factor (SPF) of sunscreens by ultraviolet spectrophotometry 2004, 40(Equation 1).
15. Bodhi W; Queljo ED; Tarukbua YSF. Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Brotowali (*Tinospora crispa* (L.) Hook F. & T) dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) 2018, 7(3).
16. Javanmardi J; Stushnoff C; Locke E. Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian *Ocimum* accessions 2003, 83, hal. 547-550
17. Food and Drug Administration Sunscreen. How to Help Protect Your Skin from the Sun. Diakses pada 1 Februari 2022, dari <https://www.fda.gov/drugs/understanding-over-countermedicines/sunscreen-how-help-protect-your-skin-sun>: 2019.
18. Dalimartha S. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*, 3rd ed.; 5th ed. Grup Puspa Swara, Anggota Ikapi: Pustaka Bunda, Jakarta, 2008.
19. Trubus R. *Herbal Indonesia Berkhasiat*, 3rd ed.; PT. Trubus Swadaya: Jakarta, 2012.

20. Mokodompit AN; Edy HJ; Wiyono W. Penentuan nilai sun protective factor (SPF) secara in vitro krim tabir surya ekstrak etanol kulit alpukat. *Pharmacon Jurnal Ilmu Farmasi* 2013, 2(3), hal. 83–85.



© 2023 by the Authors. Licensee Department of Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Muhammadiyah University of Sumatera Barat, Padang, Indonesia. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).