

**PENETAPAN KADAR FLAVONOID TOTAL DAN NILAI SPF DARI
EKSTRAK DAN FRAKSI DAUN BELIMBING WULUH
(*Averrhoa bilimbi* L.)**

**DETERMINATION OF TOTAL FLAVONOID CONTENT AND SPF
VALUE OF BELIMBING WULUH LEAF (*Averrhoa bilimbi* L.) EXTRACT
AND FRACTION**

SKRIPSI



Oleh :

**IRNA DESSY CAHYANINGRUM
4171028**

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL
SURAKARTA
2021**

**PENETAPAN KADAR FLAVONOID TOTAL DAN NILAI SPF DARI
EKSTRAK DAN FRAKSI DAUN BELIMBING WULUH
(*Averrhoa bilimbi* L.)**

**DETERMINATION OF TOTAL FLAVONOID CONTENT AND SPF
VALUE OF BELIMBING WULUH LEAF (*Averrhoa bilimbi* L.) EXTRACT
AND FRACTION**

SKRIPSI

**Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai derajat Sarjana
Farmasi (S.Farm) pada Program Studi S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu
Kesehatan Nasional di Surakarta**

Oleh:

**IRNA DESSY CAHYANINGRUM
4171028**

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL
SURAKARTA
2021**

SKRIPSI

**PENETAPAN KADAR FLAVONOID TOTAL DAN NILAI SPF DARI
EKSTRAK DAN FRAKSI DAUN BELIMBING WULUH
(*Averrhoa bilimbi* L.)**

**DETERMINATION OF TOTAL FLAVONOID CONTENT AND SPF
VALUE OF BELIMBING WULUH LEAF (*Averrhoa bilimbi* L.) EXTRACT
AND FRACTION**

Oleh :

IRNA DESSY CAHYANINGRUM

4171028

Dipertahankan di hadapan Penguji Skripsi Program Studi S1 Farmasi Sekolah
Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Pada tanggal: 23 Agustus 2021

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping

C. E Dhurhania, S.Farm., M.Sc

apt. Novena Yety L, S.Farm., M.Sc

Mengetahui,

**Ketua Program Studi S1 Farmasi
Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional**

apt. Lusia Murtiswi, S.Farm., M.Sc

Tim Penguji

- | | |
|-------------------------------------|-----------------|
| 1 apt. Susilowati, S.Farm., M.Sc | Ketua Penguji |
| 2 apt. Diah Pratimasari, M.Farm | Anggota Penguji |
| 3 C. E Dhurhania, S.Farm., M.Sc | Anggota Penguji |
| 4 apt. Novena Yety L, S.Farm., M.Sc | Anggota Penguji |

1. 
2. 
3. 
4. 

PERSEMBAHAN

Dengan menyebut nama Allah SWT

Yang maha pengasih lagi maha penyayang

“Dunia ini ibarat bayangan. Kalau kau berusaha menangkapnya, ia akan lari.

Tapi kalau kau membelakanginya, ia tak punya pilihan selain mengikutimu.”

(Ibnu Qayyim Al Jauziyyah)

“Ketahuilah bahwa kemenangan bersama kesabaran, kelapangan bersama

kesempitan, dan kesulitan bersama kemudahan.”

(HR Tirmidzi)

Kupersembahkan kepada

Allah SWT atas segala Berkah, Rahmat serta hidayah-Nya sehingga memberikan

kesehatan, kemudahan dan kelancaran dalam penyusunan skripsi serta Yang

Mulia Baginda Rasulullah SAW yang menjadi panutan umat Muslim dalam

beribadah kepada Allah SWT.

Ayah dan Mama, Subakir dan Sunarni terimakasih atas doa, semangat, motivasi,

pengorbanan, nasehat serta kasih sayang yang tidak pernah henti sampai saat ini.

Adikku Gita Rachmawati, terimakasih telah membantu dalam mengerjakan

penelitian ini.

HALAMAN PERNYATAAN

Dengan ini menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surakarta, 14 Agustus 2021

Peneliti



(Irna Dessy Cahyaningrum)

PRAKATA

Puji syukur kepada Tuhan yang Maha Pengasih dan Penyayang atas segala karunia dan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dengan judul “Penetapan Kadar Flavonoid Total dan Nilai SPF dari Ekstrak dan Fraksi Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.)” sebagai salah satu syarat menyanggah gelar Sarjana Farmasi di Progran Studi S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional. Dalam penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak.

Untuk itu penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. apt. Hartono, M.Si. selaku Ketua Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional
2. apt. Lusia Murtisiwi, S. Farm., M. Sc., selaku Ketua Program Studi S1 Farmasi
3. C.E Dhurhania, S.Farm., M.Sc.dan apt. Novena Yety Novena, S.Farm., M.Sc. selaku pembimbing yang telah membimbing penulis hingga mampu menyelesaikan Skripsi ini.
4. apt. Susilowati, S.Farm., M.Sc. dan apt. Diah Pratimasari, M. Farm selaku Tim penguji Skripsi.
5. Staf dan Karyawan Program Studi-S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional yang selalu memberi dukungan motivasi dan semangat.
6. Wibowo, A.Md dan Johan, A.Md selaku laboran yang telah membantu menyelesaikan Skripsi.
7. Seluruh staf pengajar dan karyawan Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional yang telah memberikan banyak pelajaran berharga kepada penulis.

8. Ayah, Mama dan Gita yang selalu mendoakan, memberikan nasehat dan memberikan semangat dalam proses penelitian dan penyusunan skripsi.
9. Teman-teman S1 Farmasi angkatan 2017 yang memberikan bantuan dan semangat dalam menyelesaikan penelitian.
10. Aida, Auril, Arsita, Bila, Brili, Dea, Izza, Hana dan Nisa yang telah memberikan semangat, dorongan, serta dukungan.
11. Isnaini, Ivary, Tara, Sylvi, Dilla yang telah membantu selama melaksanakan penelitian dan menyelesaikan naskah.
12. Semua pihak yang telah membantu peneliti ini yang tidak mungkin disebutkan satu persatu.

Akhir kata, penulis berharap skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi pengembangan penelitian, ilmu pengetahuan maupun dunia medis. Penulis menyadari skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan sehingga kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan.

Surakarta, 14 Agustus 2021

PENULIS

DAFTAR ISI

| | |
|---------------------------------------|-------|
| HALAMAN JUDUL | i |
| HALAMAN SAMPUL | ii |
| HALAMAN PENGESAHAN | iii |
| HALAMAN PERSEMBAHAN | iv |
| HALAMAN PERNYATAAN | v |
| PRAKATA | vi |
| DAFTAR ISI | viii |
| DAFTAR GAMBAR | xiv |
| DAFTAR TABEL | xv |
| DAFTAR LAMPIRAN | xvi |
| DAFTAR SINGKATAN | xvii |
| INTISARI | xviii |
| ABSTRACT | xix |
| BAB I. PENDAHULUAN | 1 |
| A. Latar Belakang Masalah..... | 1 |
| B. Rumusan Masalah | 4 |
| C. Tujuan Penelitian | 5 |
| D. Manfaat Penelitian | 5 |
| BAB II. TINJAUAN PUSTAKA | 6 |
| A. Tanaman Daun Belimbing Wuluh | 6 |
| 1. Taksonomi Tanaman..... | 6 |

| | |
|---|-----------|
| 2. Nama Lain..... | 7 |
| 3. Morfologi Tanaman | 7 |
| 4. Manfaat | 8 |
| 5. Kandungan Kimia | 8 |
| B. Ekstraksi..... | 8 |
| C. Fraksinasi | 9 |
| D. Senyawa Flavonoid | 10 |
| E. Metode Penetapan Flavonoid Total | 15 |
| F. Tabir Surya..... | 17 |
| G. Nilai SPF | 18 |
| H. Spektrofotometer UV-Vis | 20 |
| I. Uji Korelasi Pearson | |
| J. Landasan Teori..... | 21 |
| K. Hipotesis | 22 |
| L. Kerangka Konsep Penelitian..... | 25 |
| BAB III METODE PENELITIAN | 26 |
| A. Desain Penelitian | 26 |
| B. Tempat dan Waktu Penelitian..... | 26 |
| C. Populasi dan Sampel | 26 |
| D. Variabel Penelitian..... | 27 |
| E. Definisi Operasional Variabel..... | 27 |
| F. Alat dan Bahan..... | 28 |
| G. Jalannya Penelitian..... | 29 |

| | |
|--|-----------|
| 1. Determinasi Tanaman Belimbing wuluh | 29 |
| 2. Persiapan Bahan..... | 29 |
| 3. Pembuatan Serbuk | 30 |
| 4. Pembuatan Ekstrak Daun Belimbing wuluh | 30 |
| 5. Pembuatan Fraksi Daun Belimbing wuluh | 30 |
| 6. Penapisan Fitokimia Flavonoid..... | 31 |
| 7. Pengujian Pendahuluan Flavonoid secara KLT | 32 |
| 8. Penetapan Kadar Flavonoid | 32 |
| 9. Penetapan Nilai SPF | 34 |
| H. Analisis Hasil | 35 |
| 1. Perhitungan Rendemen..... | 35 |
| 2. Analisis Kualitatif Flavonoid | 35 |
| 3. Perhitungan Regresi Linier | 35 |
| 4. Penentuan Nilai SPF | 36 |
| 5. Perhitungan Koefisien Variasi | 37 |
| 6. Uji Statistik | 37 |
| I. Skema Jalannya Penelitian..... | 38 |
| BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN | 39 |
| A. Determinasi | 39 |
| B. Persiapan Sampel | 39 |
| C. Pembuatan ekstrak dan fraksi..... | 40 |
| D. Penapisan fitokimia flavonoid..... | 43 |
| E. Identifikasi kandungan flavonoid dengan KLT | 46 |

| | |
|--|-----------|
| F. Kadar flavonoid total..... | 49 |
| G. Nilai SPF | 53 |
| H. Hubungan kadar flavonoid terhadap Nilai SPF | 55 |
| BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN | 58 |
| A. Kesimpulan | 58 |
| B. Saran | 58 |
| DAFTAR PUSTAKA | 59 |
| LAMPIRAN..... | 66 |

DAFTAR GAMBAR

| | |
|--|----|
| Gambar 1. Daun Belimbing Wuluh | 7 |
| Gambar 2. Struktur Flavonoid | 11 |
| Gambar 3. Struktur Flavon..... | 11 |
| Gambar 4. Struktur Flavonol..... | 12 |
| Gambar 5. Struktur Kuersetin | 13 |
| Gambar 6. Struktur Flavanon..... | 13 |
| Gambar 7. Struktur Flavanol..... | 14 |
| Gambar 8. Struktur Antosianidin | 15 |
| Gambar 9. Struktur Kalkon..... | 15 |
| Gambar 10. Pembentukan Senyawa Kompleks Kuersetin- AlCl_3 | 16 |
| Gambar 11. Bagan Instrument Spektrofotometer UV-Vis..... | 21 |
| Gambar 12. Bagan Kerangka Pikir | 24 |
| Gambar 13. Bagan Skema Alur Penelitian | 37 |
| Gambar 14. Simplisia Daun Belimbing Wuluh | 40 |
| Gambar 15. Hasil Fitokimia Flavonoid Pereaksi <i>Wilstater</i> | 44 |
| Gambar 16. Reaksi Flavonol dengan Logam Mg dan HCl..... | 45 |
| Gambar 17. Hasil Fitokimia Flavonoid Pereaksi NaOH..... | 46 |
| Gambar 18. Reaksi Flavonoid dengan NaOH..... | 46 |
| Gambar 19. Profil KLT | 48 |
| Gambar 20. Pembentukan Komplek Kuersetin - AlCl_3 | 49 |
| Gambar 21. Spektrum Kuersetin pada Spektrofotometri Visibel | 51 |

| | |
|---|----|
| Gambar 22. Kurva Konsentrasi dengan Absorbansi Kuersetin | 51 |
| Gambar 21. Diagram Nilai SPF Ekstrak dan Fraksi Daun Belimbing Wuluh..... | 55 |

DAFTAR TABEL

| | |
|--|----|
| Tabel 1. Nilai Korelasi | 34 |
| Tabel 2. Hasil Rendemen Ekstrak | 42 |
| Tabel 3. Hasil Rendemen Fraksi | 43 |
| Tabel 4. Hasil Fitokimia Flavonoid Pereaksi <i>Wilsater</i> Ekstrak dan Fraksi | 44 |
| Tabel 5. Hasil Fitokimia Flavonoid Pereaksi NaOH Ekstrak dan Fraksi | 45 |
| Tabel 6. Identifikasi KLT | 48 |
| Tabel 7. Kadar Flavonoid Ekstrak dan Fraksi Daun Belimbing Wuluh | 52 |
| Taembl 8. Nilai SPF Ekstrak dan Fraksi Daun Belimbing Wuluh | 54 |
| Tabel 9. Hubungan Kadar Flavonoid Total terhadap Nilai SPF | 55 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | |
|--|----|
| Lampiran 1. Hasil Determinasi | 67 |
| Lampiran 2. Perhitungan Rendemen Ekstrak Daun Belimbing Wuluh | 70 |
| Lampiran 3. Perhitungan Rendemen Fraksi Daun Belimbing Wuluh | 71 |
| Lampiran 4. Perhitungan KLT dan Nilia Rf | 72 |
| Lampiran 5. Perhitungan Bahan..... | 73 |
| Lampiran 6. Kurva Baku Kuersetin | 75 |
| Lampiran 7. Kadar Flavonoid Ekstrak Daun Belimbing Wuluh..... | 76 |
| Lampiran 8. Kadar Flavonoid Fraksi N-heksan Daun Belimbing Wuluh | 77 |
| Lampiran 9. Kadar Flavonoid Fraksi Etil aseta Daun Belimbing Wuluh | 78 |
| Lampiran 10. Kadar Flavonoid Fraksi Air Daun Belimbing Wuluh | 79 |
| Lampiran 11. Nilai CF | 80 |
| Lampiran 12. Nilai SPF Ekstrak Daun Belimbing Wuluh..... | 81 |
| Lampiran 13. Nilai SPF Fraksi N-heksan Daun Belimbing Wuluh..... | 84 |
| Lampiran 14. Nilai SPF Fraksi Etil asetat Daun Belimbing Wuluh | 87 |
| Lampiran 15. Nilai SPF Fraksi Air Daun Belimbing Wuluh..... | 90 |
| Lampiran 16. <i>Operating Time</i> (OT) Kuersetin | 93 |
| Lampiran 17. Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin..... | 94 |
| Lampiran 18. Data Korelasi Pearson | 95 |
| Lampiran 19. Pembuatan Simplisia | 96 |
| Lampiran 20. Pembuatan Ekstrak Daun Belimbing Wuluh..... | 97 |
| Lampiran 21. Pembuatan Fraksi Daun Belimbing Wuluh..... | 98 |

| | |
|---|-----|
| Lampiran 22. Skrining Fitokimia dan KLT | 99 |
| Lampiran 23. Dokumentasi Alat dan Bahan | 100 |

DAFTAR SINGKATAN

| | |
|-----|-----------------------------|
| SPF | <i>Sun Protected Factor</i> |
| CF | <i>Correction Factor</i> |
| KLT | Kromatografi Lapis Tipis |
| Rf | <i>Redertion Factor</i> |

INTISARI

Daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) memiliki kandungan flavonoid yang berpotensi sebagai tabir surya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar flavonoid total, efektivitas tabir surya berdasarkan nilai SPF serta mengetahui hubungan antara kadar flavonoid total dengan nilai SPF ekstrak dan fraksi daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.).

Daun belimbing wuluh diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70% dan difraksinasi dengan pelarut n-heksan dan etil asetat. Penetapan kadar flavonoid total dengan pereaksi aluminium klorida dan penentuan nilai SPF konsentrasi 100 ppm, 200 ppm dan 300 ppm. Analisis hubungan antara kadar flavonoid total dengan nilai SPF ekstrak dan fraksi daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) menggunakan Uji Korelasi Pearson.

Hasil identifikasi senyawa flavonoid ekstrak dan fraksi daun belimbing wuluh mengandung senyawa flavonoid. Hasil kadar flavonoid total ekstrak, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air daun belimbing wuluh berturut-turut sebesar $1,552 \pm 0,039$ %QE, $1,221 \pm 0,006$ %QE, $1,752 \pm 0,029$ %QE dan $0,715 \pm 0,023$ %QE. Hasil efektivitas tabir surya berdasarkan nilai SPF ekstrak, fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat adalah proteksi ultra, fraksi air 100 ppm adalah proteksi maksimal sedangkan 200 ppm dan 300 ppm adalah ultra. Berdasarkan Uji Korelasi Pearson kadar flavonoid total dengan nilai SPF ekstrak dan fraksi daun belimbing wuluh terdapat hubungan yang sempurna.

Kata kunci : Daun Belimbing Wuluh, Flavonoid Total, Nilai SPF.

ABSTRACT

The leaves of star fruit (*Averrhoa bilimbi* L.) contain flavonoids that have the potential as sunscreen. This study aims to determine the total flavonoid level, the effectiveness of sunscreen based on the SPF value and to determine the relationship between the total flavonoid level with the SPF value of the extract and the fraction of starfruit leaves (*Averrhoa bilimbi* L.).

Starfruit leaves were extracted by maceration method using 70% ethanol as solvent and fractionated with n-hexane and ethyl acetate as solvent. Determination of total flavonoid content with aluminum chloride reagent and determination of SPF values of 100 ppm, 200 ppm and 300 ppm. Analysis of the relationship between total flavonoid levels with the SPF value of the extract and the leaf fraction of star fruit (*Averrhoa bilimbi* L.) using the Pearson Correlation Test.

The results of the identification of flavonoid compounds extract and fraction of starfruit leaves contain flavonoid compounds. The results of the total flavonoid content of the extract, n-hexane fraction, ethyl acetate fraction and water fraction of starfruit leaves were $1.552 \pm 0.039\%QE$, $1.221 \pm 0.006\%QE$, $1.752 \pm 0.029\%QE$ and $0.715 \pm 0.023\%QE$. The results of the effectiveness of sunscreen based on the SPF value of the extract, the n-hexane and ethyl acetate fractions were ultra protection, 100 ppm water fraction was maximum protection while 200 ppm and 300 ppm were ultra. Based on the Pearson Correlation Test, the total flavonoid content with the SPF value of the extract and the fraction of starfruit leaves showed a perfect relationship.

Key words : Belimbing Wuluh Leaves, Total Flavonoid, SPF Value.

BAB I

PENDAHULUAAN

A. Latar Belakang

Sinar matahari adalah sumber energi bagi kelangsungan hidup makhluk yang ada di bumi, akan tetapi dengan sering terpapar sinar matahari akan memberikan derajat kerusakan pada kulit yang tergantung dari frekuensi dan lamanya terpapar (Nopiyanti dan Siti, 2020). Efek berbahaya dari radiasi paparan sinar matahari disebabkan oleh sinar ultraviolet (UV) dengan wilayah spektrum elektromagnetik yang dibagi menjadi 3 wilayah yaitu UV-A (320-400nm), UV-B (290-320nm) dan UV-C (200-290nm). Radiasi pada UV-C dapat disaring oleh atmosfer sehingga tidak membahayakan, sedangkan radiasi UV-B tidak sepenuhnya disaring oleh atmosfer sehingga dapat menyebabkan kerusakan kulit akibat terpapar sinar matahari. Radiasi UV-A dapat mencapai lapisan terdalam dari epidermis dan dermis sehingga menyebabkan penuaan dini (Lolo *et al.*, 2017).

Efek paparan sinar matahari yang berlebih dapat dikurangi dengan pemakaian tabir surya. Menurut peraturan kepala BPOM RI Nomor HK.03.1.23.08.11.07517 Tahun 2011, definisi dari bahan tabir surya adalah bahan yang digunakan untuk melindungi kulit dari radiasi sinar UV dengan cara menyerap, memancarkan dan menghamburkan. Efektivitas tabir surya didasarkan oleh penentuan harga SPF (*Sun Protected Factor*) yang dapat menggambarkan kemampuan dalam melindungi kulit dari eritema (Rejeki, 2015).

Sudah banyak produk tabir surya yang beredar di pasaran baik dalam bentuk krim, lotion ataupun gel seperti Parasol cream, Skin Aqua UV Mousture Milk, Emina Sun Protection, Innisfree Intensive Triple Care Sunscreen, Wardah Sunscreen Gel dan masih banyak produk yang lain. Penggunaan tabir surya berbahan kimia tentunya memiliki efek samping yang ditimbulkan seperti dapat menyebabkan iritasi dengan rasa terbakar, rasa menyengat, dan menyebabkan alergi kontak berupa reaksi foto kontak alergi (Purwaningsih *et al*, 2015). Meskipun ada berbagai produk kosmetik *hypoallergenic* untuk kulit sensitif tetapi produk yang diperuntukan sebagai tabir surya masih jarang ditemukan. Bahan aktif tabir surya yang bersumber dari bahan alam dapat menjadi salah satu alternatif dalam menutupi kebutuhan konsumen yang kulitnya sensitif (Tahar *et al*, 2019).

Penelitian tentang tabir surya berbasis bahan alam telah banyak dilakukan, antara lain tabir surya dari ekstrak kulit buah alpukat, ekstrak kulit buah naga super merah, ekstrak temu mangga, ekstrak daun stroberi, ekstrak daun sirih merah, ekstrak tongkol, ekstrak rumput laut, ekstrak beras merah dan ekstrak daun kokang (Yanuarti *et al*, 2017; Widyastuti *et al*, 2016; Yulianti *et al*, 2016; Widyastuti *et al*, 2015; Mulyani *et al*, 2014; Warnida dan Nurhasnawati, 2017), tetapi dari beberapa bahan alam yang disebutkan belum diperoleh hasil yang maksimal karena kisaran SPF dimulai dari 2 sampai lebih dari 50 dan dianjurkan dengan paling sedikit SPF 15.

Di Indonesia sendiri terdapat banyak tumbuhan yang berpotensi sebagai tabir surya alami, salah satu bagian tanaman yang berpotensi sebagai tabir surya adalah daun belimbing wuluh. Daun belimbing wuluh merupakan salah satu bahan

penyusun alami yang banyak digunakan dalam ramuan tradisional untuk kesehatan kulit (Rahardhian, *et al.*, 2019). Di dalam tumbuhan terdapat zat alami yang dapat diekstrak dan dapat bertindak sebagai sumber potensial tabir surya karena bersifat fotoprotektif. Hal tersebut memberikan gambaran bahwa kemampuan tanaman untuk melindungi kulit melalui senyawa yang terkandung di dalam tanaman yang berupa senyawa bioaktif seperti senyawa fenolik dan didukung oleh adanya senyawa yang bersifat antioksidan (Tahar *et al.*, 2019).

Berdasarkan skrining fitokimia yang dilakukan oleh Yanti dan Vera (2019) pada ekstrak methanol daun belimbing wuluh mengandung alkaloid, flavonoid, saponin polifenol, terpenoid maupun steroid, fraksi n-heksan hanya mengandung flavonoid dan steroid dan fraksi etil asetat mengandung alkaloid, flavonoid, polifenol dan steroid. Flavonoid merupakan salah satu golongan senyawa fenolik, kandungan flavonoid tersebut memiliki aktifitas farmalogikal yang bermanfaat sebagai antioksidan (Insan *et al.*, 2019).

Antioksidan dapat melindungi kulit dari efek negatif radikal bebas yang dapat mengakibatkan kerusakan kulit akibat terpapar sinar matahari. Antioksidan membantu peremajaan sel-sel tubuh sehingga sel tubuh dapat beregenerasi (Widyastuti *et al.*, 2016). Menurut Syahrani (2015) dan Supratman (2010) senyawa flavonoid dan tanin memiliki potensi sebagai tabir surya karena memiliki gugus kromofor yang menyebabkan suatu molekul dapat mengalami transisi elektronik sehingga molekul tersebut dapat menyerap radiasi sinar UV-A dan UV-B sehingga dapat mengurangi intensitas pada kulit.

Berdasarkan penelitian sebelumnya ekstrak etanol daun belimbing wuluh dengan metode Aluminium klorida memiliki kadar flavonoid total sebesar 21,42% (Sari *et al.*, 2019). Nilai SPF ekstrak etanol daun belimbing wuluh menurut penelitian yang dilakukan oleh Rahardhian *et al* (2019) pada konsentrasi 100 ppm sebesar 9,615 memiliki kemampuan proteksi maksimal, konsentrasi 200 ppm sebesar 12,087 memiliki kemampuan proteksi maksimal dan konsentrasi 300 ppm sebesar 28,125 memiliki kemampuan proteksi ultra. Semakin besar nilai SPF yang dihasilkan, efektifitas tabir surya semakin baik dalam memproteksi kulit.

Berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan Adhayanti (2017) menunjukkan adanya hubungan antara kadar flavonoid total terhadap aktifitas tabir surya dari ekstrak kulit pisang ambon dikarenakan senyawa flavonoid mampu menghambat reaksi oksidasi melalui mekanisme penangkal radikal bebas. Semakin tinggi kandungan flavonoid, semakin baik pula aktivitas tabir surya.

Berdasarkan uraian di atas, penelitian kadar flavonoid total dan nilai SPF hanya sampai ekstrak saja sehingga peneliti ingin mengembangkan penelitian tersebut dari ekstrak menjadi 3 fraksi yaitu fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air daun belimbing wuluh. Tujuan dikembangkan menjadi fraksi yaitu diharapkan mencari bagian senyawa yang paling aktif sebagai tabir surya.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah maka dirumuskan suatu permasalahan sebagai berikut :

1. Berapa kadar senyawa flavonoid total ekstrak dan fraksi daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*)?
2. Bagaimana efektivitas tabir surya berdasarkan nilai SPF ekstrak dan fraksi daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*)?
3. Bagaimanakah hubungan antara kadar flavonoid total terhadap nilai SPF ekstrak dan fraksi daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*) ?

C. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui kadar senyawa flavonoid total dari ekstrak dan fraksi daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*).
2. Mengetahui efektivitas tabir surya berdasarkan nilai SPF ekstrak dan fraksi daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*).
3. Mengetahui adanya hubungan antara kadar flavonoid total terhadap nilai SPF ekstrak dan fraksi daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*).

D. Manfaat Penelitian

1. Memberikan informasi kepada masyarakat tentang hubungan kadar flavonoid total dengan nilai SPF ekstrak dan fraksi daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*) dalam pengembangan kosmetik bahan alam.
2. Menambah sumber data ilmiah atau rujukan bagi penelitian selanjutnya yang dapat diformulasikan sebagai obat tradisional.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian yang dilakukan merupakan jenis penelitian eksperimental karena penelitian memberikan intervensi perlakuan dalam proses penyarian yaitu dalam bentuk ekstraksi dan fraksinasi serta melakukan analisis terhadap kandungan flavonoid dan nilai SPF dari proses tersebut.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Teknologi Farmasi Bahan Alam dan Sintesis Obat Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional pada bulan Januari 2020 sampai Juli 2020. Determinasi tanaman belimbing wuluh dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Muhammadiyah Surakarta.

C. Populasi dan Sampel

Populasi dari penelitian ini adalah seluruh tanaman belimbing wuluh yang didapatkan di pekarangan rumah di Pundung gede, Joglo, Surakarta, Jawa Tengah dan sampel yang digunakan adalah daun belimbing wuluh. Pengambilan sampel di daerah Pundung gede dengan ketinggian ± 105 m dpl sudah sesuai dengan ketinggian daerah tumbuh belimbing wuluh yaitu 5-500 m dpl. Teknik pengambilan sampel yang digunakan adalah *purposive sampling*, yaitu teknik pengambilan sampel dari anggota populasi yang dilakukan menggunakan kriteria yang telah

dipilih oleh peneliti dalam memilih sampel. Daun belimbing wuluh yang dipilih yaitu daun yang masih segar yang masih melekat pada pohon dan daun tua, berwarna hijau tidak berlubang dan daun yang tumbuh pada urutan ketiga dari pucuk sampai seterusnya ke bawah.

D. Variabel Penelitian

Identifikasi Variabel Utama

Variabel utama yang diidentifikasi dalam penelitian ini adalah uji flavonoid total dan nilai SPF dari ekstrak dan fraksi daun belimbing wuluh. Variabel utama diklasifikasikan menjadi 3 yaitu variabel bebas, variabel terkontrol dan variabel tergantung. Variabel pada penelitian ini yaitu :

- 1) Variabel bebas dalam penelitian ini adalah cara penyarian sampel dengan metode ekstraksi dan fraksinasi
- 2) Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah kadar flavonoid total dan nilai SPF dari ekstrak dan fraksi daun belimbing wuluh.
- 3) Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah alat, kualitas bahan, dan penetapan waktu kestabilan serapan.

E. Definisi Operasional Variabel

Definisi operasional yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

1. Ekstrak etanol daun belimbing wuluh adalah ekstrak yang diperoleh dari ekstrak simplisia daun belimbing wuluh dengan metode maserasi dan menggunakan pelarut etanol 70%.

2. Fraksinasi merupakan proses pemisahan senyawa berdasarkan tingkat kepolaran. Fraksi daun belimbing wuluh merupakan hasil dari ekstrak etanol yang dipisahkan dengan partisi cair-cair menggunakan corong pisah dengan berbagai pelarut berdasarkan tingkat kepolaran diawali pelarut air dengan n-heksan kemudian etil asetat.
3. Uji flavonoid total adalah kadar dalam sampel yang dinyatakan sebagai ekuivalen kuersetin (EQ). Uji flavonoid total didapatkan dari pengukuran serapan seri larutan standar yang dibuat kurva dengan nilai konsentrasi sebagai sumbu x dan serapan sebagai sumbu y dan diperoleh persamaan regresi linier $y = bx + a$ (Musiam *et al.*, 2020)
4. Nilai SPF adalah satuan tabir surya yang dapat digunakan untuk melindungi radiasi UV-B dan tidak dapat melindungi sinar UV-A. Nilai SPF dapat dihitung menggunakan analisis secara spektrofotometri larutan hasil pengenceran dari tabir surya yang diuji.
5. Proteksi maksimal adalah keefektivan tabir surya dalam memberikan proteksi kulit pada rentang nilai SPF 8-15.
6. Proteksi ultra adalah keefektivan tabir surya dalam memberikan proteksi kulit pada nilai SPF lebih dari 15.

F. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat-alat yang digunakan terdiri dari spektrofotometer UV- Vis (Shimadzu UV 1280), rotary evaporator (IKA HB 10 basic), waterbath

(Mommert), timbangan analitik (Ohaus EP 214 sensitivitas 0,1 mg), blender (Philips), corong pisah (pyrex), gelas ukur (pyrex), labu ukur (pyrex), pipet volume (pyrex), pipet tetes, cawan porselin, tabung reaksi, batang pengaduk, chamber, gelas beaker (pyrex).

2. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun belimbing wuluh, etanol 70% (Medika), n-heksan (Merck®), etil asetat (Merck®), etanol p.a (Merck®), akuades, kuersetin (Sigma Aldrich), $AlCl_3$ (Aluminium klorida) (Merck®), asam asetat (Merck®), serbuk magnesium, HCL (Merck®), $FeCl_3$ (Merck®).

G. Jalannya Penelitian

1. Determinasi Tanaman Belimbing wuluh

Tahapan awal dalam penelitian ini adalah memastikan kebenaran tanaman belimbing wuluh berkaitan dengan ciri-ciri morfologis pada tanaman belimbing wuluh. Tanaman belimbing wuluh dideterminasi terlebih dahulu di Laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Muhammadiyah Surakarta.

2. Persiapan Bahan

Daun belimbing wuluh dipilih daun yang masih segar, daun tua, berwarna hijau tidak berlubang dan daun pada urutan ketiga dari pucuk sampai seterusnya ke bawah ditimbang sebanyak 3,0 kg dilakukan penyortiran kemudian dicuci dengan air mengalir dan ditiriskan. Daun belimbing wuluh tersebut selanjutnya dikeringkan beberapa saat di bawah sinar matahari dalam

kondisi tertutup kain hitam hingga daun layu kemudian dilanjutkan dengan pengeringan dalam oven pada suhu $50\pm 3^{\circ}\text{C}$ untuk mendapatkan simplisia kering yang ditandai dengan tekstur daun yang mudah hancur ketika diremas.

3. Pembuatan Serbuk

Simplisia kering daun belimbing wuluh kemudian dihaluskan menggunakan blender dan diayak dengan saringan berukuran 60 mesh untuk menghasilkan serbuk (Yanti dan Vera, 2019).

4. Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh

Serbuk daun belimbing wuluh ditimbang sebanyak 500,0 gram kemudian dimasukkan dalam bejana maserasi dengan pelarut etanol 70% sebanyak 3750,0 mL dengan perbandingan 1:7,5 yaitu 1 bagian simplisia dimasukkan dalam 7,5 bagian cairan penyari kemudian didiamkan selama 5 hari dengan dilakukan pengadukan sekali dalam sehari. Hasil maserat disaring dengan kain flanel. Residu direndam kembali dengan 1250,0 mL etanol 70% diamkan selama 2 hari. Hasil maserat yang diperoleh dari maserasi tahap pertama dan kedua disaring dan dipisahkan dengan *vacum rotary evaporator* yang diatur dengan kecepatan putaran 200 rpm dengan suhu 50°C kemudian hasilnya di waterbath dengan suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental daun belimbing wuluh (Nopiyanti dan Aisiyah, 2020).

5. Pembuatan Fraksi Daun Belimbing Wuluh

a. Pembuatan fraksi n-heksan daun belimbing wuluh

Ekstrak etanol daun belimbing wuluh sebanyak 20,0 gram dilarutkan dalam 100,0 mL air hangat hingga larut sempurna dan

difraksinasi dengan n-heksan sebanyak 100,0 mL. Proses dilakukan pengulangan 3 kali menggunakan corong pisah. Sari n-heksan dikumpulkan kemudian dipekatkan dengan *waterbath* pada suhu 50 °C. Sari n-heksan yang sudah dipekatkan disebut fraksi n-heksan (Hikmah, 2012).

b. Pembuatan fraksi etil asetat dan fraksi air daun belimbing wuluh

Residu sisa fraksinasi n-heksan ditambahkan etil asetat (1:1) difraksinasi menggunakan corong pisah, proses dilakukan pengulangan 3 kali. Sari etil asetat dikumpulkan kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator*. Sari etil asetat yang sudah dipekatkan disebut fraksi etil asetat. Residu sisa fraksinasi etil asetat disebut fraksi air (Hikmah, 2012).

6. Penapisan Fitokimia Flavonoid

a. Pembuatan larutan uji flavonoid

Pembuatan larutan uji flavonoid dilakukan dengan melarutkan 250 mg ekstrak dan fraksi daun daun belimbing wuluh dalam 25 mL etanol 70% (Susanti *et al*, 2013).

b. Uji flavonoid dengan pereaksi *Wilstater*

Larutan uji diambil sebanyak 1,0 mL ditambahkan beberapa tetes HCl pekat kemudian ditambahkan sedikit serbuk Mg. Hal serupa dilakukan pula terhadap larutan baku kuersetin sebagai kontrol positif. Hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna merah-orange (Asmorowati dan Novena, 2019).

c. Uji flavonoid dengan pereaksi NaOH

Larutan uji diambil sebanyak 1,0 mL ditambahkan beberapa tetes NaOH. Hal serupa dilakukan pula terhadap larutan baku kuersetin sebagai kontrol positif. Hasil positif menunjukkan warna kuning (Mutiarra dan Wildan, 2014).

7. Pengujian Pendahuluan Flavonoid Secara KLT

Ekstrak etanol daun belimbing wuluh, fraksi daun belimbing wuluh dan pembanding kuersetin yang telah dilarutkan dengan etanol 70%, ditotolkan bersama-sama pada lempeng kromatografi lapis tipis (KLT) dengan fase diam silika gel dan fase gerak etil asetat : metanol (3:1). Bercak kromatogram yang dihasilkan diamati dengan sinar ultraviolet 254 nm dan 366 nm, sebelum dan setelah disemprot dengan AlCl_3 5%. Bercak dengan fluoresensi warna kuning menunjukkan adanya flavonoid (Markham, 1988).

8. Penetapan Kadar Flavonoid

a. Pembuatan Reagen untuk Penetapan Kadar Flavonoid Total

Penetapan kadar flavonoid total dilakukan dengan mengacu pada prosedur Chang *et al.*, (2002) dengan beberapa modifikasi menggunakan kuersetin sebagai standar.

1) Pembuatan larutan AlCl_3 10%

Serbuk AlCl_3 sebanyak 5,0 gram ditimbang seksama dan dimasukkan ke dalam beaker glass kemudian dilarutkan dengan sebagian aquadest hingga larut sempurna, dimasukkan ke dalam labu ukur 50,0 ml dan ditambahkan aquadest hingga tanda batas.

2) Pembuatan Asam Asetat 5%

Asam asetat dipipet 2,5 mL dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL kemudian ditambahkan aquadest hingga tanda batas.

3) Pembuatan larutan blangko

Larutan AlCl_3 10% dipipet 1,0 mL ditambahkan asam asetat 5% sebanyak 8,0 ml ke dalam labu ukur 10,0 mL cukupkan dengan etanol 70% sampai tanda (Asmorowati dan Novena, 2019)

b. Pembuatan Larutan Baku Kuersetin

Larutan baku kuersetin ditimbang seksama sebanyak 25,0 mg larutkan dalam 25,0 ml etanol pa 70% didapat konsentrasi 1000 ppm. Larutan baku 1000 ppm dipipet 1,0 mL, ditambahkan etanol pa 70% ke dalam labu ukur 10 mL hingga tanda dan didapat konsentrasi 100 ppm (Sari *et al.*, 2019)

c. Penentuan *Operating Time* (OT)

Larutan kuersetin 100 ppm diambil sebanyak 1 mL ditambahkan dengan 1 mL AlCl_3 10% dan 8 mL asam asetat 5%. Larutan tersebut diukur absorbansinya dengan interval waktu tiap menit pada panjang gelombang 412 nm hingga diperoleh absorbansi yang stabil (Sari *et al.*, 2019)

d. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan kuersetin 100 ppm diambil sebanyak 1 mL lalu direaksikan dengan 1 mL AlCl_3 10% dan 8 mL asam asetat 5%.

Absorbansi larutan diukur panjang gelombang 380-450 nm saat terjadi *operating time* (Sari, *et al.*, 2019)

e. Pembuatan Kurva Baku Kuersetin

Larutan baku kuersetin 1000 ppm dipipet 0,2 mL; 0,3 mL; 0,4 mL; 0,5 mL dan 0,6 mL ditambahkan etanol pa 70% sampai volumenya 5 mL sehingga diperoleh konsentrasi 40, 60, 80,100, dan 120 ppm. Sebanyak 1 mL larutan dari masing-masing konsentrasi ditambahkan 1,0 mL AlCl_3 10% dan 8,0 mL asam asetat 5%. Larutan didiamkan selama *operating time* kemudian absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum (Sari *et al.*, 2019).

f. Penetapan Kadar Flavonoid Total

Ekstrak dan fraksi daun belimbing wuluh ditimbang seksama 60,0 mg dilarutkan dalam 10,0 mL etanol 70% kemudian diambil masing-masing sebanyak 1,0 ml larutan ditambahkan 1,0 mL AlCl_3 10% dan 8,0 mL asam asetat 5%. Larutan didiamkan selama *operating time*, absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum (Sari *et al.*, 2019).

9. Penetapan Nilai SPF

a. Penentuan nilai CF (*Correction Factor*)

Sediaan tabir surya yang telah diketahui nilai SPF-nya ditimbang 2,50 mg dilarutkan dengan 25,0 mL etanol 70%, kemudian absorbansi diukur pada panjang gelombang 290-320 nm dengan interval 5 nm dan digunakan etanol 70% sebagai blangko. Hasil absorbansi yang diperoleh

kemudian diolah menggunakan persamaan Mansur sehingga diperoleh nilai CF.

b. Penetapan nilai SPF

Ekstrak dan fraksi daun belimbing wuluh ditimbang 2,50 mg; 5,0 mg dan 7,50 mg dilarutkan dengan etanol 70% sehingga diperoleh konsentrasi 100, 200, dan 300 ppm kemudian masing-masing konsentrasi dibuat 3 replikasi. Selanjutnya dilakukan pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 290- 320 nm dengan interval 5 nm dan etanol digunakan sebagai blangko. Hasil absorbansi digunakan untuk menghitung nilai SPF (Rahardhian *et al.*, 2019)

H. Analisis Hasil

1. Perhitungan Randemen

Ekstrak dan fraksi kental yang diperoleh kemudian dihitung randemennya dengan rumus :

$$\% \text{ Randemen} = \frac{\text{bobot yang diperoleh}}{\text{bobot bahan awal}} \times 100\%$$

2. Analisis Kualitatif Flavonoid

Ekstrak dan fraksi daun belimbing wuluh dianalisis dengan KLT dan pereaksi warna. Flavonoid dengan KLT diidentifikasi dengan penyemprotan AlCl_3 yang akan memberikan warna kuning kehijauan. Hasil uji pereaksi Wilstater jika berwarna merah orange dan uji pereaksi NaOH jika berwarna kuning berarti positif mengandung flavonoid.

3. Perhitungan Regresi Linier

Kadar flavonoid total dihitung menggunakan persamaan regresi linear berdasarkan kurva kalibrasi hasil pembacaan spektrofotometer UV-Vis. Data absorbansi yang diperoleh dari penetapan kadar flavonoid total dimasukkan dalam persamaan regresi linier sebagai y, dengan demikian akan diperoleh nilai x sebagai konsentrasi flavonoid total dalam larutan sampel kerja. Hasil dinyatakan sebagai rata-rata tiga kali pengukuran dan kandungan flavonoid total dinyatakan dengan kesetaraan larutan standar flavonoid total menggunakan baku pembanding kuersetin. Persamaan regresi linier dinyatakan dengan :

$$y = bx + a$$

Keterangan: y = absorbansi

x = konsentrasi C ppm

b = slope (kemiringan)

a = intersep

4. Penentuan Nilai SPF

Nilai SPF diperoleh dari hasil pengukuran absorbansi sampel dengan spektrofotometer UV, dengan interval 5 nm pada panjang gelombang 290-320 nm berdasarkan persamaan Mansur (Rahardhian *et al*, 2019).

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

Keterangan :

SPF : Spektrum efek eritemal

EE : Efektivitas eritema yang disebabkan sinar UV

I : Spektrum intensitas sinar

Abs : Absorbansi

CF : Faktor koreksi

5. Perhitungan Koefisien Variasi (KV)

Data penetapan kadar tiap replikasi pada masing-masing proses ekstraksi dan fraksinasi dihitung nilai koefisien variasi. Koefisien variasi (KV) digunakan untuk mengetahui kesesuaian analisis satu dengan hasil analisis lain dari suatu seri pengukuran yang diperoleh dari sampling acak secara berulang dari sampel homogenya (Snyder *et al.*, 2010).

$$\% CV = \frac{\text{Standar deviasi}}{\text{Rata-rata kadar sampel}} \times 100\%$$

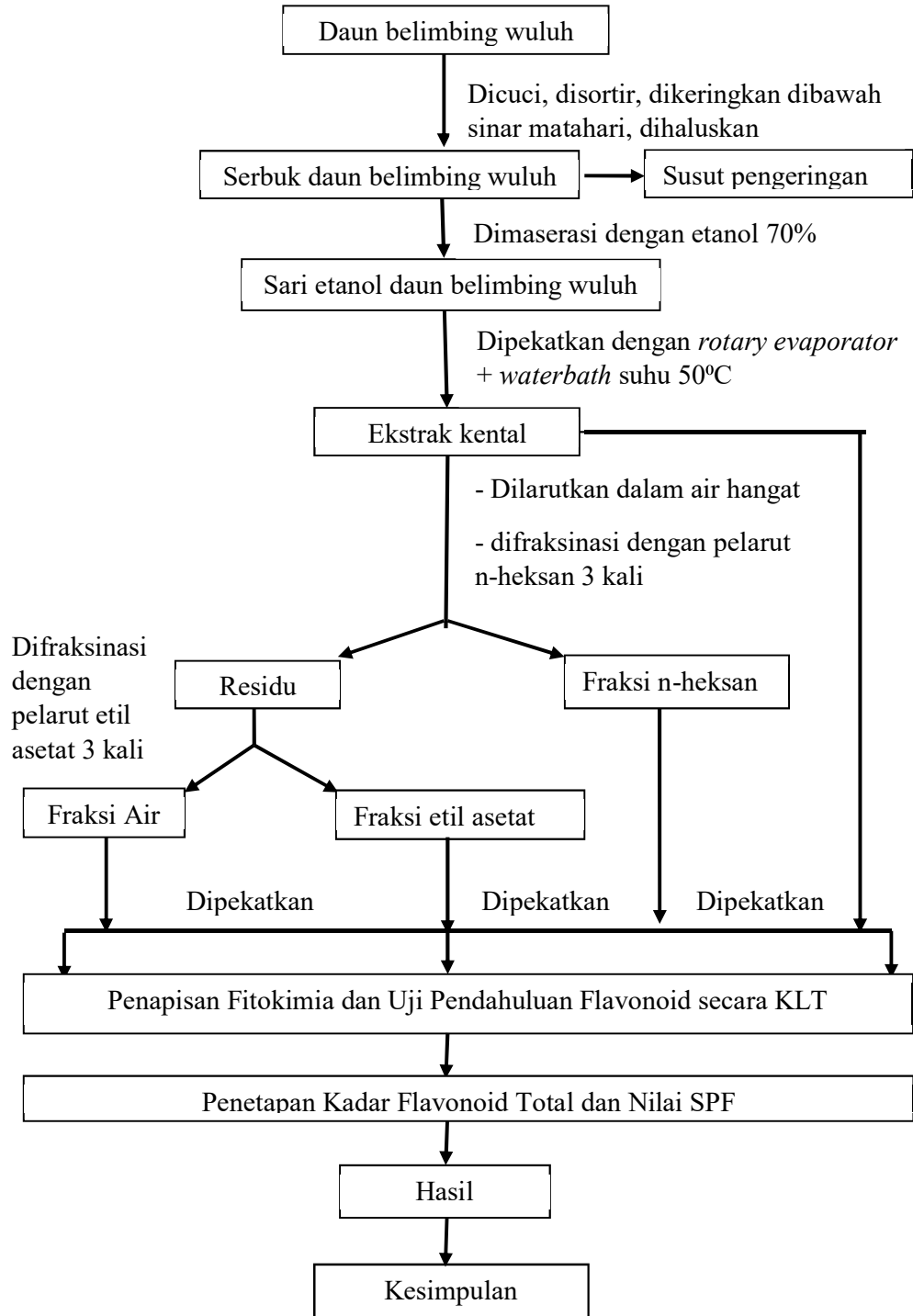
6. Uji Statistik

Pengolahan data hubungan kandungan flavonoid total terhadap nilai SPF menggunakan program SPSS analisis statistik *Pearson Correlation*. Hasil analisis korelasi berupa matrik antara variabel yang saling berkorelasi, informasi yang muncul terdapat tiga baris yaitu baris pertama berisi nilai korelasi (r), baris kedua menampilkan nilai p value dan baris ketiga menampilkan jumlah data (N). Nilai r dapat dilihat pada tabel 1 berikut.

Tabel 1. Nilai Korelasi

| Korelasi (r) | Tingkat Hubungan |
|---------------------|--|
| 0,00 – 0,25 | Tidak ada hubungan atau hubungan lemah |
| 0,26 – 0,50 | Hubungan sedang |
| 0,51 – 0,75 | Hubungan kuat |
| 0,76 - 1 | Hubungan sangat kuat atau sempurna |

I. Skema Jalannya Penelitian



Gambar 13. Bagan skema alur penelitian

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Kadar flavonoid total rata-rata dari ekstrak, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air daun belimbing wuluh berturut-turut sebesar 1.552 ± 0.039 %QE, 1.221 ± 0.006 %QE, 1.752 ± 0.029 %QE dan 0.715 ± 0.023 %QE.
2. Efektivitas tabir surya berdasarkan nilai SPF ekstrak, fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat daun belimbing wuluh konsentrasi 100 ppm , 200 ppm dan 300 ppm yaitu proteksi ultra, sedangkan fraksi air daun belimbing wuluh konsentrasi 100 ppm yaitu proteksi maksimal dan konsentrasi 200 ppm dan 300 ppm yaitu proteksi ultra.
3. Terdapat hubungan yang sangat kuat atau sempurna antara kadar flavonoid total terhadap nilai SPF ekstrak, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air daun belimbing wuluh dengan nilai korelasi (r) 0,948.

B. Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk diformulasikan sebagai bentuk pengembangan produk sediaan tabir surya dan penentuan kadar flavonoid dengan metode kolorimetri dengan 2,4-dinitrofenilhidrazin (DNP).

DAFTAR PUSTAKA

- Adhayanti, Ida., 2017., Hubungan Kandungan Total Polifenol dan Flavonoid terhadap Aktivitas Tabir Surya Kulit Pisang Ambon (*Musa acuminata*)., *Media Farmasi*., Vol. XIII (2)
- Alfaridz, Faizal., dan Riezki Amalia., 2018, Review Jurnal : Klasifikasi dan Aktivitas Farmakologi dari Senyawa Aktif Flavonoid, *Farmaka*, Vol 16 (3): 2-4.
- Aryantini, Dyah., Fita Sari., Juleha., 2017, Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Aktif Terstandar Flavonoid dari Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*), *Jurnal Wiyata*, Vol. 4(2).
- Arief, Prahasta, 2009, *Belimbing*. Bandung: CV Pustaka Grafika
- Arifin, Bustanul., dan Sanusi Ibrahim, 2018, Struktur, Bioaktivitas dan Antioksidan Flavonoid, *Jurnal Zarah*, Vol. 6 (1): 24.
- Apriyani, Marlina., 2020., Penetapan Kadar Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak dan Fraksi Daun Salam (*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp) dengan Metode ABTS., *Skripsi*., Prodi S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional.
- Asmorowati, Hani., dan Novena Yety Lindawati., 2019., Penetapan Kadar Flavonoid Total Alpukat (*Persea Americana* Mill.) dengan Metode Spektrofotometri., *Jurnal Ilmiah Farmasi*., Vol . 15 (2).
- Aulia, Ihdina., Welinda Dyah Ayu., Rolan Rusli., 2016, Aktivitas Tabir Surya Fraksi N-Heksan Buah Lido Berdasarkan Nilai SPF, *Prosiding Seminar Nasional Kefarmasian*.
- Azizah, Dyah Nur., Endang Kumolowati., dan Fahrauk Faramayuda., 2014., Penetapan Kadar Flavonoid Metode $AlCl_3$ pada Ekstrak Metanol Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.), *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi*., Vol.2 (2).
- Damogalad, Viondy., Hosea Jaya Edy., Hamidah Sri Supriati., 2013, Formulasi Krim Tabir Surya Ekstrak Kulit Nanas (*Anana comosus* L Merr) dan Uji *In Vitro* Nilai *Sun Protection Factor* (SPF), *Jurnal Ilmiah Farmasi*, Vol 2 (2): 40.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Jakarta : Diktorat Jendral POM-Depkes RI.
- Fidrianny, Irda., Yurika Johan., Sukrasno., 2015, Antioxidant Activities of

Different Polarity Extracts from Three Organs of Makrut Lime (*Citrus hystrix* D. C) and Correlation with Total Flavonoid, Phenolic, Carotenoid Content, *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, ISSN : 0974-2441, Vol 8 (4) : 240.

- Handayani, Virsa., Tadjuddin Naid., Ria Fitriani Umasangaji., 2020, Studi Komparasi Aktivitas Antioksidan Daun Jeruk Purut dan Daun Jeruk Nipis Asal Kota Ternate Menggunakan Metode Peredaman Radikal Bebas DPPH, *As-Syifaa Jurnal Farmasi*, ISSN : 2502-9444, Vol 12 (1) : 57.
- Hermawan, Dedi Septiana., Yani Lukmayani., Undang Ahmad Dasuki., 2016, Identifikasi Senyawa Flavonoid Pada Ekstrak dan Fraksi Yang Berasal Dari Buah Berenuk (*Crescentia cujete* L.), *Prosiding Farmasi*, ISSN : 2460-6472.
- Hikmah, Fiqhanisa Dinul., 2012, Pengaruh Partisi Bertingkat Cair-Cair Ekstrak Etanol Rimpang Jahe (*Zingiber officinale* Rosc.) terhadap Profil Kandungan Senyawa Kimia dan Aktivitas Antiradikal, *Naskah Publikasi*, Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Huda, N., 2001, Pemeriksaan Kinerja Spektrofotometer UV-Vis, GBC 911A Menggunakan Pewarna Tartazine CI 19140, *Sigma Epsilon ISSN 08539013*
- Insan, Rangi Rahimul., Anni Faridah., Asmar Yulastri., Rahmi Holinesti., 2019, Using Belimbing Wuluh (*Averhoa blimbi* L.) As A Functional Food Processing Product, *Jurnal pendidikan Tata Boga dan Teknologi*, Vol. 1 (1).
- Indraningsih., 2020, Penetapan Kadar Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak dan Fraksi Daun Seledri (*Apium graveolens* L.) dengan Metode ABTS., *Skripsi.*, Prodi S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional.
- Irawan, Anom., 2019, Kalibrasi Spektrofotometer sebagai Penjamin Mutu Hasil Pengukuran dalam Kegiatan Penelitian dan Pengujian, *Indonesian Journal of Laboratory*, Vol. 1 (2).
- Ismawan, Bambang, 2010, *Herbal Indonesia Berkhasiat: Bukti Ilmiah dan Cara Racik*, Depok : PT. Trubus Swadaya.
- Ismail, Isriany., 2013, Potensi Bahan Alam sebagai Bahan Aktif Kosmetik Tabir Surya, *JF UINAM*, Vol. 1 (1): 46,48-52.
- Kartikasari, Ayu., 2015, Penetapan Kadar Polifenol Total, Flavonoid Total, dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata*) dari Jember pada Ketinggian Tanah yang Berbeda, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Jember.

- Khoirunnisa, Rahmi., Ressi Susanti., dan Nera Umilia Purwanti., 2019., Penetapan Kadar Total Flavonoid dan Fenol Fraksi Etil Asetat dari Ekstrak Etanol Rimpang *Acorus sp.*, *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN.*, Vol. 4 (1).
- Kresnanugraha, Y., 2012. Uji Penghambatan Aktivitas Enzim Xantin Oksidase dari Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dan Identifikasi Golongan Senyawa dari Fraksi Aktif., *Skripsi.*, FMIPA Universitas Indonesia. Jakarta.
- Liandhajani., Maria Immaculata Iwo., Sukrasno., Andrianus A. Soemardji., I Ketut Adnyana., 2011, Aktivitas Ekstrak Ethanol Daun, Ranting, dan Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana l.*) sebagai Tabir Surya secara *in vitro*, *Acta Pharmaceutica Indonesia*, Vol. XXXVI.
- Luginda, Rega Alfaz., Bina Lohita., Lusi Indriani., 2018, Pengaruh Variasi Konsentrasi Pelarut Etanol Terhadap Kadar Flavonoid Total Daun Beluntas (*Pluchea indica (L.)Less*) Dengan Metode *Microwave-Assisted Extraction (MAE)*, *Jurnal Online Mahasiswa*.
- Lolo, Widya Astuty., Sri Sudewi., Hosea Jaya Edy., 2017, Penentuan *Sun Protection Factor (SPF)* Herba Krokot (*Portulacaoleracea L.*), *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 2017, 02, 02.
- Manalu Lamhot P., dan Himawan Adinegoro., 2016., Kondisi Proses Pengeringan untuk Menghasilkan Simplisia Temuputih Standar., *Jurnal Standarisasi*, Vol. 18.
- Markham., 1988, *Cara Identifikasi Flavonoid*, Diterjemahkan oleh Kokasih Padmawinata, Penerbit ITB : Bandung.
- Miean, K.H. dan S. Mohamed, 2001, Flavonoid (Myricetin, Quercetin, Kaempferol, Luteolin, and Apigenin) Content of Edible Tropical Plants, *Journal Agricultural Food Chemistry*, Vol. 49.
- Mukhriani., 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif, *Jurnal Kesehatan*, Vol. 7 (2): 362-363.
- Mukhriani., FaridhaYenny Nonci., Sitti Munawarah., 2015., Analisis Kadar Flavonoid Total pada Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata L.*) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis., *JF FIK UINAM.*, Vol. 3(2).
- Musiam, Siska., Fitria Ulfah., Imam Agus Faisal., Eka Kumalasari., Riza Alfian., 2020, Aktivitas Antifungi Flavonoid dari Ekstrak Daun *Citrus aurantifolia* Kalimantan Selatan terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*, *Jurnal Farmasi Indonesia AFAMEDIS*, Vol. 1 (1).

- Mutiara, Erlita Verdia., dan Achmad Wildan., 2014, Ekstraksi Flavonoid dari Daun Pare (*Momordica charantia* L.) Berbantu Gelombang Mikro sebagai Penurun Kadar Glukosa secara In Vitro, *METANA*, Vol. 10 (1).
- Nugroho, Fahmy Aji., 2014., Pengaruh Lama Blancing Pericarp Durian (*Durio zibethinus* Murr) terhadap Total Fenolik, Flavonoid, Tanin dan Aktivitas Antioksidan Ektrak yang Dihasilkannya., *Skripsi.*, Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Semarang.
- Nugroho, Simon Bagus., 2014., Korelasi antara Prestasi Akademik dengan Tingkat Kemampuan TIK pada Sekolah Dasar Negeri Malangjiwan., *Jurnal TIKomSiN.*, ISSN : 2338-4018, Vol. 2(2).
- Nunung., Sri Luliana., dan Pratiwi Apridamayanti., 2019., Identifikasi Senyawa Flavonoid Ekstrak Daun Senggani (*Melastoma malabathricum* L.) menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis., *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN.*, Vol. 4 (1).
- Nopiyanti, Vivin., dan Aisiyah Siti., 2020, Uji Penentuan Nilai SPF (*Sun Protection Factor*) Fraksi Bunga Rosela (*Hibiscus Sabdariffa* L.) sebagai Zat Aktif Tabir Surya, *Journal of Pharmacy*, Vol. 9 (1): 20.
- Parikesit, M, 2011, *Khasiat dan Manfaat Belimbing Wuluh Obat Herbal Sepanjang Zaman Stomata*, Surabaya.
- Pramiastuti, Oktariani., 2019, Penentuan Nilai SPF (*Sun Prptection Factor*) Ekstrak dan Fraksi Daun Kecombrang (*Etlingera elatior*) secara In Vitro Menggunakan Metode Spektrofotometri, *Journal Poltetegal*, Vol. 8 (1).
- Pratiwi, Risna Rachma., Senadi Budiman., Ginayati Hadisoebroto., 2016, Penetapan Kadar Nilai SPF (*Sun Prptection Factor*) dengan Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis pada Krim Pencerah Wajah yang Mengandung Tabir Surya yang Beredar di Kota Bandung, *Prosiding Seminar Nasional Kimia UNJANI-HKI*.
- Purwaningsih, Sri., Ella Salamah., M. Nur Adnin., 2015, Efek Fotoprotektif Krim Tabir Surya dengan Penambahan Karaginan dan Buah Bakau Hitam (*Rhizopora mucronata* Lamk.), *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*, Vol. 7 (1).
- Rahmi, Unzila., Yunazar Manjang., Adlis Santoni., 2013, Profil Fitokimia Metabolit Sekunder dan Uji Aktivitas Antioksidan Tanaman Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D. C) dan Jeruk Bali (*Citrus maxima* (Burm.f.) Merr), *Jurnal Kimia Unand*, ISSN No. 2303-3401, Vol. 2 (2): 110.

- Rahmati, Resti Azkiya., Tresna Lestari., Ruswanto., 2020., Penetapan Kadar Total Flavonoid Ekstrak Etanol dan Fraksi Daun Saliara (*Lantana camara* L.) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis., *Skripsi.*, Prodi S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Bakti Tunas Husada Tasikmalaya.
- Rahardhian, Muhammad Ryan Radix., Ririn Suharsanti., Nining Sugihartini., Endang Lukitaningsih., 2019, *In Vitro* Assessment of Total Phenolic, Total Flavonoid and Sunscreen Activities of Crude Ethanolic Extract of Belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*) Fruits and Leaves, *Journal of Global Pharma Technologi*, ISSN: 0975-8542, Vol. 11.
- Rasab, Syamsuarni., 2016, Uji Aktivitas Antimikroba Fraksi Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Terhadap Beberapa Mikroba Uji, *Skripsi*, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
- Rejeki, Sri., 2015, Ekstraksi Dan Penetapan Nilai SPF Minyak Nyamplung Dengan Metode Spektrofotometri, *Indonesia Journal On Medical Science*, Vol. 2 (1): 8.
- Riyanto, Ph.D., 2014., *Validasi dan Verifikasi : Sesuai dengan ISO/IEC 17025 Laboratorium Pengujian dan Kalibrasi.*, Yogyakarta : Deepublish.
- Riyanto, Agus., 2011., *Pengolahan dan Analisis Data Kesehatan.*, Yogyakarta : Pustaka Pelajar
- Safitri, Widayanti Ratna., 2016., Analisis Korelasi Pearson dalam Menentukan Hubungan antara Kejadian Demam Berdarah Dengue dengan Kepadatan Penduduk di Kota Surabaya Tahun 2012-2014., *Jurnal Ilmiah Keperawatan.*, Vol. 2(2).
- Salmia., 2016, Analisis Kadar Flavonoid Total Ekstrak Kulit Batang Kedondong Bangkok (*Spondias dulcis*) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis, *Skripsi*, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Alauddin, Makassar.
- Sari, Ina Rini Mutia., 2012, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Jamur *Pleuroyus ostreatus* dengan Metode DPPH dan Identifikasi Golongan Senyawa Kimia dari Fraksi Teraktif, *Skripsi*, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Program Sarjana Ekstensi Farmasi, Depok.
- Sari, Anna Khumaira., Noverda Ayuchecaria., Dwi Rizki Febrianti., Moch Maulidie Alfiannor., Vita Regitasari., 2019, Analisis Kuantitatif Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) di Banjarmasin dengan Metode Spektrofotometri *UV-Visible*, *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, Vol. 2(1)

- Sekaran, Uma dan Bougie, R., 2010., *Research Methods for Business: A Skill Building Approach*, John Wiley and sons, inc. : London.
- Snyder, R.L., Kirkland, J.J., 2010, *Introduction Liquid Chromatography*, John Wiley & Sons, Inc., *New Jersey*, pp, 92, 254, 327, 361, 399, 517.
- Supratman, U., 2010, *Elusidasi Struktur Senyawa Orgaik*, Widya Padjajaran Bandung
- Susanti, Meri., Dachriyanus., dan Doni Permana Putra., 2012., *Aktivitas Perlindungan Sinar UV Kulit Buah *Garcinia mangostana* Linn secara In Vitro.*, *Pharmac.*, Vol. 13 (2).
- Tahar, Nurshalati., Nurfajri Indriani., Faridha Yenny Nonci., 2019, *Efek Tabir Surya Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia*), *ad-Dawaa' J.Pharm.Sci*, Vol. 2 (1)*
- Tunjung, W.A.S., Cinatl, J., Michaelis, M., Smales, M., 2015, *Anti-Cancer Effect of Kaffir Lime (*Citrus hystrix* DC) Leaf Extract in Cervical Cancer and Neuroblastoma Cell Lines*, *Jurnal Prodia Chemistry* 14 (2015).
- Uthia, Rahimatul., Helmi Arifin., dan Feni Efrianti., 2017., *Pengaruh Hasil Fraksinasi Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum sanctum* L.) terhadap Aktivitas Susunan Saraf Pusat pada Mencit Putih Jantan.*, *Jurnal Farmasi Higea.*, Vol. 9 (1).
- Wahyulianingsih., Selpida Handayani., dan Abd. Malik., 2016., *Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr & Perry).*, *Jurnal Fitofarmaka Indonesia.*, Vol. 3 (2).
- Warono, Dwi., dan Syamsudin., 2013, *Unjuk kerja spektrofotometer untuk analisa zat aktif ketoprofen*, *Fakultas Teknik: Universitas Muhammadiyah Jakarta.*
- Wicaksono, Iman Bagus., dan Maria Ulfah., 2017, *Uji Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dan Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)*, *Inovasi Teknik Kimia*, Vol. 2 (1).
- Widyastuti., Ariya Ekan Kusuma., Nurlaili, Fitriani Sukmawati., 2016, *Aktivitas Antioksidan dan Tabir Surya Ekstrak Etanol Daun Stroberi (*Fragaria x ananassa* A.N. Duchesne)*, *Jurnal Sains Farmasi dan Klinis*, Vol. 3 (1).
- Wiraningtyas, Agrippina., Ruslan., Sry Agustina., Uswatun Hasanah., 2019, *Penentuan Nilai Sun Protection Factor (SPF) dari Ekstrak Kulit Bawang Merah*, *Jurnal Redoks : Jurnal Pendidikan Kimia dan Ilmu Kimia*, ISSN 2614-7300, Vol 2 (1): 36.

- Yanti, Susi., dan Yulia Vera., 2019, Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*), *Jurnal Kesehatan Ilmiah Indonesia*, Vol. 4(2).
- Yuliawati, Kiki M., Esti R. Sadiyah., Riski Solehati., Aldi Elgiawan., 2019, Pengujian Aktivitas Tabir Surya Ekstrak dan Fraksi Daun Kopi Robusta (*Coffea canephora*), *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, SUPP 1(1).
- Zuhria, Kimiko Hikari., Adeltrudis Adelsa Danimayostu., Siti Jazimah Iswarin., 2017, Perbandingan Nilai Aktivitas Aantioksidan Ekstrak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) dan Bentuk Liposomnya, *Majalah Kesehatan FKUB*, Vol. 4 (2): 65.