

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Pustaka

1. Tanaman Pecut Kuda

Tanaman pecut kuda (*Stachytarpheta jamaicensis* L.Vahl) adalah salah satu tanaman yang banyak tumbuh di Indonesia. Tanaman pecut kuda merupakan tanaman liar yang dapat tumbuh dimana saja dan tidak banyak digunakan oleh masyarakat. Daerah dengan iklim tropis merupakan tempat yang cocok untuk tumbuhan ini berkembang, baik dataran rendah maupun dataran tinggi sepanjang tahun. Tumbuhan ini tergolong keluarga *verbenaceae* yang memiliki tinggi berkisar antara 0,6 m–1,2 m dengan daun yang berwarna hijau (Setiawan, 2019).

1.1 Klasifikasi Daun Pecut Kuda

Klasifikasi tanaman pecut

Kingdom	:	Plantae
Sub kingdom	:	Viridi Plantae
Infra kingdom	:	Streptophyta
Super Division	:	Embryophyta
Devision	:	Tracheophyta
Class	:	Magnoliopsida
Super order	:	Asteranae
Order	:	Lamiales
Family	:	Verbenaceae
Genus	:	Stachytapheta
Species	:	<i>Stachytarpheta jamaicensis</i> (L) Vahl.

(ITIS, 2022).

kuda adalah sebagai berikut:

1.2 Nama Daerah Daun Pecut Kuda. Pecut kuda memiliki banyak nama yang berbeda tergantung di mana digunakan, seperti jarong, jarongan, jarong lalaki (Sunda), sekar laru, laler mengeng (Jawa), sangko hidung (Sulawesi), dan dodinga (Maluku) (Setiawan, 2019).

1.3. Morfologi Daun Pecut Kuda. Tanaman pecut kuda (Gambar 1) hidup pada ketinggian 1 sampai 1500 m di atas permukaan laut, tanaman pecut kuda banyak ditemukan di ladang dan di pinggir jalan. Daun pecut kuda terletak pada sudut yang berlawanan dari bentuk ovalnya, dan mereka memiliki pangkal yang lebih sempit, ujung yang runcing, dan bergerigi. Berwarna hijau tua, berbulu, dan dengan alur

daun, daun pecut kuda memiliki tekstur kasar. Daun pecut kuda memiliki panjang sekitar 4,5 inci dan lebar 0,5 hingga 2,5 inci (Backer dan Brink, 1965 dalam Setiawan, 2019).



Gambar 1. Daun Pecut Kuda (Hapsari, 2018)

1.4. Kandungan Senyawa Daun Pecut Kuda. Daun pecut kuda disebutkan mengandung senyawa metabolit seperti alkaloid, flavonoid, triterpeoid, steroid, tanin dan saponin. Daun pecut kuda memiliki aktivitas antioksidan yang tergolong sangat kuat yaitu sebesar 16,66 $\mu\text{g/mL}$ (Rante dkk., 2020). Fraksi etil asetat daun pecut kuda memiliki kandungan flavonoid sebesar 36,44% dan fenolik sebesar 7,34%. Fraksi etil asetat daun pecut kuda mempunyai aktivitas penangkal radikal DPPH yang tinggi dengan nilai IC_{50} sebesar 2,99 $\mu\text{g/mL}$ (Indriani, 2018).

1.5. Kegunaan Tanaman Daun Pecut Kuda. Tanaman pecut kuda dapat digunakan untuk mengatasi masalah perut yang digunakan sebagai pengobatan dalam bentuk tonikum. Ekstrak daun dan batang digunakan dalam bentuk teh sebelum dikonsumsi untuk mengobati masalah perut seperti asam lambung dan masalah pencernaan (Idu dkk., 2006). Nugrahani dkk, (2019) menjelaskan bahwa eksudat daun pecut kuda (*Stachytarpheta jamaicensis* L Vahl) mempunyai aktivitas sebagai penyembuh luka sayat yang hampir sama dengan providon iodine pada hewan uji kelinci (*Oryctolagus cuniculus*). Volume pemberian eksudat daun pecut kuda yang berbeda berpengaruh terhadap kemampuan penyembuhan luka pada hewan uji. Ekstrak etanol daun pecut kuda menggunakan dosis 200 mg/kgBB mempunyai efek tonikum yang

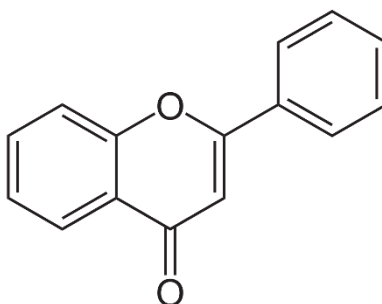
hampir sama dengan kafein dosis 13 mg/kgBB. Semakin banyak ekstrak etanol daun pecut kuda yang diberikan semakin kuat efek tonikum yang dihasilkan. Efek tonikum yang terdapat dalam ekstrak daun pecut kuda disebabkan oleh tindakan stimulasi sistem saraf pusat yang meningkatkan tingkat energi mencit (Savira dkk., 2022).

2. Simplisia

Simplisia merupakan suatu bahan alam yang berguna sebagai pengobatan, belum melalui proses pembuatan dan kecuali dinyatakan lain berupa bahan yang sudah dikeringkan (Depkes RI, 1995). Simplisia dibagi menjadi tiga macam yaitu simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia pelikan. Simplisia nabati merupakan suatu simplisia berupa tanaman utuh, bagian dari tanaman atau ekstrak tanaman. Simplisia hewani merupakan simplisia yang berasal dari hewan dan berupa bagian tubuh hewan utuh, atau zat-zat yang bermanfaat yang bersumber dari hewan tetapi belum berbentuk zat kimia yang murni. Simplisia pelikan merupakan simplisia yang berasal dari bahan pelikan atau mineral yang belum dilakukan proses pembuatan atau telah dilakukan pembuatan dengan metode yang sederhana tetapi belum berupa senyawa asli (Depkes RI, 1987).

Karakteristik fisik serbuk simplisia daun pecut kuda yaitu serbuk berwarna hijau, berbau khas dan mempunyai rasa pahit (Harpina dkk., 2022). Menurut penelitian Astuti, (2016) kandungan senyawa flavonoid pada tanaman pecut kuda berbeda-beda, bagian daun pecut kuda memiliki kadar flavonoid sebesar 9,6481 mg/g ekstrak, pada bagian batang sebesar 5,2450 mg/g ekstrak, dan pada bagian herba pecut kuda memiliki kadar flavonoid sebesar 6,0444 mg/g ekstrak. Menurut penelitian Utomo, (2020) ekstrak daun pecut kuda yang diekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol 96 % menghasilkan kadar fenolik sebesar 8,74 mg/L.

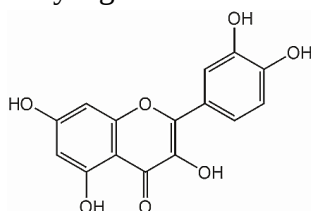
3. Flavonoid



Gambar 2. Struktur Dasar Flavonoid (Markham, 1988)

Flavonoid biasanya terdapat sebagai flavonoid O-glikosida, pada senyawa tersebut satu gugus hidroksil flavonoid (atau lebih) terikat pada satu gula (atau lebih) dengan ikatan hemiasetal yang tak tahan asam. Pengaruh glikosilasi menyebabkan flavonoid menjadi kurang reaktif dan lebih mudah larut dalam air. Gula dapat terikat pada atom karbon flavonoid dan dalam hal ini gula tersebut terikat langsung pada inti benzena dengan suatu ikatan karbon-karbon yang tahan asam. Glikosida yang demikian disebut C-glikosida. Jenis gula yang terikat jauh lebih sedikit ketimbang jenis gula pada O-glikosida, biasanya dari jenis glukosa yang paling umum dan juga galaktosa. Jenis aglikon flavonoid yang terlibat pun sangat terbatas. Jadi, walaupun isoflavon, flavanon, dan flavonol kadang-kadang terdapat dalam bentuk C-glikosida (Markham, 1988).

Flavonoid merupakan kelompok senyawa yang banyak ditemukan pada tumbuhan. Tingkat hidroksilasi, alkoksilasi, atau glikosilasi menyebabkan senyawa flavonoid mempunyai banyak variasi struktur. Flavonoid sering terdapat di alam dalam bentuk glikosida. Banyak senyawa flavonoid diketahui memiliki efek fisiologis tertentu. Pengobatan – pengobatan tradisional banyak memanfaatkan tanaman yang mengandung flavonoid. Penelitian lebih lanjut perlu diupayakan untuk mengetahui manfaat yang berbeda berasal dari senyawa flavonoid.



Gambar 3. Struktur Kuersetin (Sirait, 2007)

Kuersetin merupakan senyawa flavonol terbesar. Kuersetin dan glikosidanya tersebar luas dalam tumbuhan sekitar 60-70% dari

flavonoid. Kuersetin memiliki rumus molekul $C_{15}H_{10}O_7$ dan berat molekul 302,236 g/mol, dengan titik lebur $316^{\circ}C$ (Kelly, 2011). Kuersetin dikategorikan sebagai flavonol, salah satu dari enam subclass senyawa flavonoid. *The International Union of Pure and Applied Chemistry* (IUPAC) menyebutkan nomenklatur untuk kuersetin adalah 3,3',4',5,7- *pentahydroxyflavanone*. Kuersetin adalah aglikon. Aglikon adalah komponen bukan gula sedangkan glikon adalah komponen gula. Berbagai flavonol dibuat oleh penempatan diferensial kelompok fenolik-OH dan gula (glikon). Semua flavonol, termasuk kuersetin memiliki kesamaan yaitu 3-*hydroxyflavone* (Siswarni dkk., 2017).

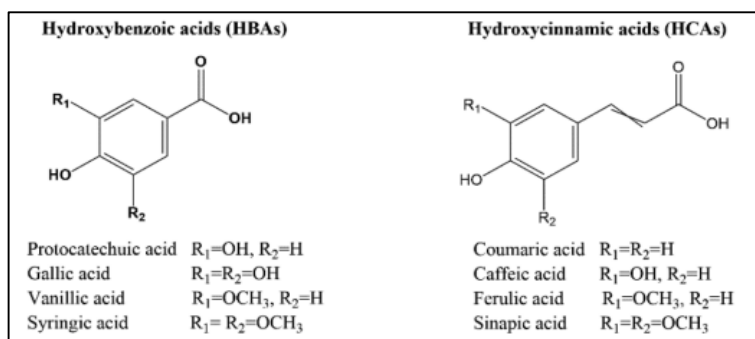
4. Penentuan kadar total flavonoid

Berbagai metode dapat digunakan untuk mengukur kadar flavonoid total dalam tumbuhan. Salah satu cara yang sesuai dengan Departemen Kesehatan Republik Indonesia adalah spektrofotometri UV yang didasarkan pada prinsip kolorimetri (Carbonaro, 2005). Flavonoid mengandung senyawa aromatik terkonjugasi yang dapat menunjukkan pita serapan yang tinggi pada rentang UV-Vis, yang juga dapat digunakan untuk menghitung kandungan total flavonoid dalam ekstrak dengan mengukur nilai serapannya (Salmia, 2016). Absorbansi warna yang terbentuk diukur dengan spektrometer UV-Vis. Kandungan kuersetin dihitung sebagai kandungan flavonoid total sampel (DepKes RI, 2000). Kuersetin adalah flavonoid yang termasuk dalam kelompok flavonol dan memiliki gugus keto pada atom C-4 dan gugus hidroksil pada atom C-7 dan C-3 atau C-5 yang berdekatan. Quercetin dan glikosidanya menyusun sekitar 60-75% flavonoid dan merupakan salah satu senyawa flavonoid yang dapat membentuk kompleks saat berikatan dengan $AlCl_3$ (Kelly, 2011).

Analisis kuantitatif flavonoid dapat dilakukan dengan spektrofotometer UV-Vis. Spektra serapan ultraviolet dan sinar tampak merupakan metode yang paling berguna untuk menentukan struktur flavonoid. Kandungan flavonoid total diukur berdasarkan keberadaan kuersetin dalam ekstrak tumbuhan. Penetapan kadar dilakukan dengan menambahkan reagen $AlCl_3$. $AlCl_3$ membentuk ikatan kompleks dengan gugus hidroksil senyawa flavonoid. Perubahan ini dideteksi dengan penyerapan dalam rentang yang terlihat dengan spektrofotometer. Semakin banyak senyawa flavonoid yang dikandung ekstrak maka semakin kuat warna kuning yang terlihat secara optik (Neldawati, 2013).

Kuersetin digunakan sebagai standar untuk menentukan kadar flavonoid karena kuersetin termasuk golongan flavonol, yaitu memiliki gugus keto pada atom C-4 dan gugus hidroksil pada atom C-3 dan C-5 yang berdekatan (Indra dkk., 2019).

5. Fenolik



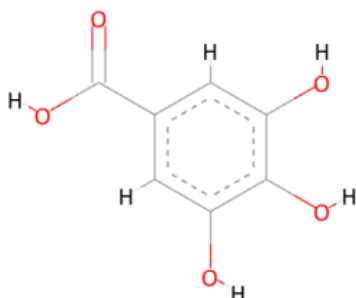
Gambar 4. Struktur Senyawa Fenolik (Zhang dkk., 2022)

Sebagian besar senyawa organik yang ditemukan dalam produk alami adalah senyawa aromatik. Beberapa senyawa aromatik ini mengandung cincin karboaromatik yang terbuat dari atom karbon serta hidrogen. Cincin karboaromatik ini biasanya tersubstitusi dengan satu atau lebih hidroksil atau gugus serupa lainnya.

Itu sebabnya senyawa ini sering disebut fenol. Secara biogenik, senyawa fenolik dibagi menjadi dua jenis. Pertama yaitu senyawa fenolik jalur asam asetat-malonat. Kelompok fenolik lain, yaitu flavonoid, yang dibentuk oleh kombinasi dua jalur biosintetik, juga ditemukan. (Endarini, 2016).

Kelompok utama senyawa fenolik dari jalur siklomat adalah fenilpropanoid. Senyawa fenolik ini memiliki kerangka karbon cincin benzena (C₆) yang melekat pada ujung rantai karbon propana (C₃). Kelompok senyawa fenolik banyak ditemukan pada tumbuhan tingkat tinggi. Beberapa senyawa turunan dari asam sinamat, profenilfenol, turunan kumarin, termasuk turunan fenilpropanoid. Turunan asam sinamat umum memiliki suatu konfigurasi trans. Isomerisasi terjadi di bawah pengaruh sinar ultraviolet membentuk konfigurasi cis (Endarini, 2016). Asam fenolik termasuk golongan utama senyawa fenolik pada tanaman dan hadir dalam bentuk bebas dan terikat. Fenolik asam dapat dibagi menjadi 2 sub kelompok: asam hidroksibenzoat (HBA) dan asam hidroksisinamat (HCA). HBA didasarkan pada struktur C₆-C₁ dan

termasuk p-HBA, protocatechuic, vanillic, galat, dan asam syringic. Namun, HCA adalah senyawa aromatik dengan rantai samping 3-karbon (C6-C3), termasuk coumaric, asam caffeic, ferulic, dan sinapic.³⁴ HBA ditemukan berlimpah dalam minyak sayur, sereal, kopi, kacang tunggak, blackcurrant, raspberry, cangkang labu dan biji-bijian, dan blackberry. HCA sebagian besar bersumber dari kopi, ceri, sereal, persik, bayam, jeruk jus dan buah-buahan, plum, tomat, kentang, dan almond (Zhang dkk., 2022).



Gambar 5. Struktur asam galat (yang dkk., 2020)

Asam galat merupakan senyawa polifenol yang terkandung dalam tanaman. Asam galat berperan dalam metabolit sekunder pada bagian dari tanaman. Senyawa asam galat murni berbentuk kristal tidak berwarna dan tidak berbau (Yang dkk., 2020). Struktur asam galat mempunyai gugus $-OH$ yang mampu bereaksi dengan radikal bebas sehingga menghindari proses oksidasi lebih lanjut. Asam galat mampu bereaksi dengan radikal bebas peroksi dan hidrosiperoksi yang terbentuk dari reaksi oksidasi. Radikal asam galat yang terbentuk distabilkan melalui interaksi dua ikatan hidrogen pada posisi ortho (Badhani dkk., 2015). Asam galat digunakan sebagai pembanding digunakan asam galat yang merupakan turunan dari asam hidroksibenzoat yang tergolong asam fenol sederhana serta merupakan senyawa polifenol yang terdapat di hampir semua tanaman yang bersifat stabil dan murni. Asam galat memiliki reaksi yang cukup tinggi dengan reagen Folin-Ciocalteu (Novitasari, 2018).

6. Penentuan kadar total fenolik

Kadar fenol total ditentukan menurut prinsip Folin-Ciocalteu, yang didasarkan pada reaksi oksidasi-reduksi. Pereaksi Folin-Ciocalteu digunakan karena senyawa fenolik dapat bereaksi dengan folin dan membentuk larutan berwarna. Larutan berwarna tersebut yang akan diukur absorbansinya. Prinsip pengukuran kadar fenol dengan pereaksi

Folin-Ciocalteu adalah terbentuknya kompleks berwarna biru yang diukur pada panjang gelombang maksimum. Senyawa fenolik bereaksi dengan pereaksi Folin-Ciocalteu hanya dalam kondisi basa ketika disosiasi proton dalam ion fenolik terjadi pada senyawa fenolik. NaOH 1% digunakan untuk membuat kondisi basa. Warna biru yang dihasilkan lebih pekat tergantung konsentrasi ion fenol yang terbentuk yaitu H. Semakin tinggi konsentrasi senyawa fenolik, semakin banyak ion fenolik yang direduksi menjadi kompleks molibdenum-tungsten oleh asam heteropoli (fosfomolibdenum dan fosfotungsten).

Asam galat digunakan sebagai standar karena dapat membentuk kompleks dengan pereaksi Folin-Ciocalteu dengan sangat efisien (Winarno dkk., 2019). Asam galat merupakan senyawa fenolik yang stabil dan sederhana yang berasal dari asam hidroksibenzoat. kadar total fenolik ekstrak tergantung pada polaritas pelarut yang digunakan dalam ekstraksi. Kelarutan senyawa fenolik yang tinggi pada pelarut polar menyebabkan tingginya konsentrasi pada ekstrak yang diperoleh selama ekstraksi dengan pelarut polar (Indra dkk., 2019).

7. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan salah satu teknik pemisahan senyawa kimia yang digunakan untuk mengekstraksi atau memisahkan suatu kelompok senyawa atau lebih dari suatu sampel tertentu dengan berbagai macam pelarut yang sesuai. Ekstraksi padat cair merupakan suatu proses perpindahan suatu zat dari konsentrasi tinggi ke daerah yang memiliki konsentrasi yang rendah atau difusi analit dari sampel yang berbentuk padatan ke dalam pelarutnya. Proses tersebut dapat berlangsung jika senyawa yang diharapkan dapat terlarut dalam pelarut yang sesuai. Prinsip dari ekstraksi padat cair berdasarkan pada kelarutan senyawa dengan menggunakan pelarut tertentu (Leba, 2017).

Menurut penelitian Sa'adah dkk, (2017) proses ekstraksi menggunakan metode maserasi menghasilkan kadar flavonoid yang tinggi yaitu sebesar 11,41 mg/g ekstrak dibandingkan dengan menggunakan metode sokhletasi yaitu sebesar 11,05 mg/g ekstrak. Kadar flavonoid total dan fenolik total yang diekstraksi dengan metode maserasi menghasilkan kadar sebesar 28, 42 mg/g ekstrak dan 40,25 mg/g ekstrak, sedangkan kadar flavonoid total dan fenolik total yang diekstraksi dengan metode digesti meghasilkan kadar sebesar 11,52 mg/g ekstrak dan 8,12 mg/g ekstrak (Putri, 2022).

Teknik ekstraksi yang paling sederhana adalah maserasi. Ekstraksi bahan dari sel yang utuh dan pembubaran atau pelarutan bahan simplisia dari sel rusak terkait proses ekstraksi sehingga disebut dasar dari maserasi. Proses ekstraksi berakhir karena telah tercapai keseimbangan antara bahan yang diambil dari bagian dalam sel dan yang masuk ke dalam cairan (Voight, 1994). Maserasi adalah metode ekstraksi yang melibatkan pengadukan berulang pada suhu ruang. Proses ini memiliki keuntungan karena sederhana dan tidak memerlukan pemanasan, sehingga senyawa-senyawa yang termasuk dalam bahan alam memiliki kemungkinan yang kecil untuk rusak atau terurai tergantung pada polaritas pelarut dan kemampuan untuk melarutkan zat dalam sampel (Istiqomah, 2013 dalam Susanty dan Bachmid, 2016).

8. Fraksinasi

Prinsip dari fraksinasi yaitu suatu proses penghilangan atau penarikan senyawa dari ekstrak yang menggunakan macam - macam pelarut yang berbeda kepolarannya. Jenis pelarut yang banyak digunakan dalam proses fraksinasi antara lain n-heksana dan etil asetat. *N*-heksan digunakan untuk menarik senyawa kimia non-polar sedangkan etil asetat digunakan untuk menarik senyawa kimia semi-polar. Proses fraksinasi melibatkan pemisahan senyawa berdasarkan kepolarannya. Pelarut polar digunakan untuk menarik senyawa yang bersifat polar, sedangkan pelarut non polar digunakan untuk menarik senyawa yang bersifat non polar (Mutiasari, 2012).

Ekstrak adalah campuran banyak senyawa yang sulit untuk dipisahkan menggunakan pemisahan tunggal. Ekstrak awal dapat dipisahkan dengan metode fraksinasi yang mempunyai kalarutan senyawa yang sesuai. Fraksinasi dapat dilakukan dengan berbagai cara yaitu ekstraksi cair-cair dengan kromatografi cair vakum (KCV), kromatografi kolom (KK), *size-exclusion chromatography* (SEC), dan *solid-phase extraction* (SPE) (Sarker, 2006).

Teknik pemisahan yang umum digunakan adalah fraksinasi cair – cair yang menggunakan dua jenis pelarut. Dua jenis pelarut yang tidak saling bercampur menyebabkan senyawa yang diinginkan dapat dipisahkan dengan metode ini. Metode fraksinasi lain yang dapat digunakan adalah pemisahan suatu senyawa menggunakan kromatografi kolom menggunakan glass pipa yang dilengkapi dengan katup atau kran dan penyaring yang terdapat di dalamnya. Ukuran kolom yang

digunakan ditentukan berdasarkan jumlah sampel yang dipisahkan. Penggunaan kapas untuk penyerap dan penahan yang diletakan di dalam kolom. Penuangan kolom dilakukan secara hati-hati dengan campuran yang setara (Harborne, 1996). Faktor yang mempengaruhi dari proses fraksinasi yaitu jumlah pelarut per gram ekstrak, waktu fraksinasi dan lama pengadukan (Khusnanto dkk., 2021).

9. Pelarut

Pelarut merupakan zat yang digunakan sebagai bahan untuk melarutkan zat lain. Keberhasilan penarikan zat aktif dari simplisia suatu tanaman dipengaruhi oleh jenis pelarut dalam proses ekstraksi. Pelarut ekstraksi yang baik memiliki toksisitas yang rendah terhadap pelarut, mudah menguap pada suhu rendah sehingga dapat digunakan untuk ekstraksi senyawa secara cepat, memiliki komsum, dan memungkinkan pemisahan ekstrak dengan mudah (Tiwari dkk., 2011).

Pelarut yang ideal dan umum digunakan yaitu alkohol karena dapat mengekstraksi senyawa yang memiliki berat molekul rendah dengan baik (Arifianti dkk., 2014). Etanol dimanfaatkan sebagai pelarut karena bersifat universal, polar, dan mudah didapatkan. Etanol 96% bersifat selektif, memiliki absorpsi yang baik, tidak bersifat toksik, dan mempunyai kemampuan penyarian yang lebih baik, sehingga dapat menyari senyawa yang bersifat non-polar, semipolar dan polar. Etanol 96% lebih mudah menembus dinding sel sampel dibandingkan pelarut etanol dengan konsentrasi yang lebih rendah, memungkinkan untuk menghasilkan ekstrak pekat (Wendersteyt dkk., 2021).

Nilai prediksi hidrofobisitas ($\log p$) merupakan koefisien yang relatif kecil, namun kehadirannya masih mempengaruhi kinerja. Nilai $\log p$ adalah parameter yang digunakan untuk menentukan kelarutan suatu senyawa dalam suatu pelarut. Pengaruh $\log p$ mungkin terjadi selama proses farmakokinetik, yaitu dalam proses penyerapan, distribusi atau ukuran nilai afinitas senyawa terhadap protein plasma, atau dalam mekanisme yang menembus penghalang darah-otak lipofilik (Utomo dkk 2017). Faktor hidrofobik (lipofilik) memiliki efek yang lebih kecil pada aktivitas biologis dibandingkan faktor elektronik. Faktor hidrofobik dibantu oleh polaritas senyawa modulator. Senyawa non polar lebih mudah larut dalam fase minyak atau fase non polar. Banyak pelarut yang umum digunakan dan dikaitkan dengan nilai $\log P$ yang dapat dijadikan sebagai pedoman pemilihan pelarut (Tabel 1) (Wulandari, 2011).

Tabel 1. Nilai Log P Pelarut

Pelarut	Log P
Heptana	3,42
Heksana	3,0
Pentana	2,58
Sikloheksana	2,5
Toluena	2,52
Kloroform	1,67
Diklorometana	1,01
Diisopropil eter	1,4
Tert – butanol	0,6
Dietil eter	0,76
Isobutanol	0,95
Asetontril	0,17
Isobutil metil keton	1,6
2 – propanol	0,38
Etil asetat	0,29
1 – propanol	0,55
Etil metil keton	2,34
Aseton	0,2
Etanol	0,07
1,4 dioksan	-0,31
Tetrahidrofuran	0,4
Methanol	-0,27
Piridin	0,7
Air	-1,38

Pelarut *n*-heksan bersifat non polar dan digunakan untuk melarutkan senyawa yang bersifat non polar. Senyawa-senyawa yang bersifat non polar contohnya lemak dan asam lemak tinggi, triterpenoid, terpenoid, karotenoid dan steroid (Depkes RI, 1987). Pelarut *n* – heksan adalah hasil pemurnian minyak tanah yang sudah dalam bentuk murni, tidak berwarna, bersifat mudah terbakar, berbau khas yang dapat menyebabkan hilangnya kesadaran, tidak dapat larut dalam air (Tiwari dkk., 2011).

Etil asetat adalah suatu jenis pelarut organik yang mempunyai sifat semipolar sehingga dapat digunakan untuk menarik senyawa yang bersifat semipolar pada simplisia. Pelarut etil asetat bersifat mudah terbakar dan mudah menguap. Penyimpanan pelarut etil asetat yaitu dalam wadah tertutup rapat dan terhindar dari sinar matahari langsung. Kelarutan etil asetat yaitu larut dalam 15 bagian air yang dicampur dengan etanol dan eter (Harbone, 1987). Etil asetat dapat digunakan

untuk mengekstrak senyawa seperti alkaloid, flavonoid, fenol dan antrakuinon (Putri dkk., 2013).

Air adalah suatu pelarut yang mempunyai sifat polar dan merupakan pelarut *universal* biasanya digunakan untuk mengekstraksi simplisia tumbuhan yang memiliki aktivitas antimikroba (Tiwari dkk., 2011). Air digunakan untuk melarutkan senyawa polar seperti saponin, tanin, garam alkaloid, gom, pati, gula, asam organik, zat warna, dan protein (Depkes RI, 1986).

10. Sinar Ultraviolet (UV)

Spektrum cahaya matahari sangat luas pada panjang gelombang dari spektrum inframerah hingga ultraviolet. Panjang gelombang sinar ultraviolet dibagi menjadi tiga antara lain UV-A, UV-B dan UV-C. Sinar ultraviolet bermanfaat bagi manusia karena menyintesis vitamin D dan juga membunuh bakteri. Namun, selain manfaat tersebut, sinar ultraviolet bisa berbahaya bagi manusia jika terlalu lama terpapar kulit. Paparan sinar UV dapat dibagi menjadi UV-A pada panjang gelombang 400-320 nm, UV-B pada panjang gelombang 320-290 nm, dan UV-C pada panjang gelombang 290-10 nm. Semua sinar UV-A memancar ke bumi, sedangkan hanya sebagian sinar UV-B yang dipancarkan ke bumi (terutama sinar dengan panjang gelombang mendekati UV-A. Pada panjang gelombang yang lebih pendek, sinar UV-B dan sinar UV-C tidak dapat masuk ke mencapai tanah karena diserap oleh lapisan ozon di atmosfer bumi. Ketika lapisan ozon di atmosfer rusak, semakin banyak sinar UV-B yang mencapai bumi dan mempengaruhi kulit (Isfardiyana dan Safitri 2014).

Bahaya cahaya ultraviolet yaitu menyebabkan dampak buruk efek eritema pada kulit. Umumnya sinar UV terutama UV-B dapat menyebabkan eritema pada kulit. Hal tersebut adalah bentuk iritasi kulit yang disebabkan oleh paparan dari UV. Biasanya, gejala iritasi juga disertai rasa gatal pada beberapa area kulit yang memerah. Sinar ultraviolet juga dapat menyebabkan gejala kulit seperti terbakar. Eritema adalah kondisi dimana kulit menjadi merah dan membengkak akibat paparan sinar UV-B (Isfardiyana dan Safitri, 2014).

11. Tabir Surya

Tabir surya atau filter UV adalah bahan dalam formulasi topikal yang dapat berinteraksi dengan UVR (radiasi ultraviolet) melalui tiga

mekanisme dasar yaitu refleksi, hamburan, penyerapan. Tabir surya pada dasarnya dibedakan tabir surya organik dan anorganik, yang memiliki mekanisme kerja spesifik setelah terpapar sinar matahari (Egambaram dkk., 2020). Tabir surya adalah suatu senyawa yang dapat digunakan secara fisik atau kimiawi untuk menyerap sinar matahari secara efektif, terutama dalam rentang radiasi ultraviolet, dan mencegah penyakit kulit yang disebabkan oleh sinar ultraviolet. Banyaknya radiasi yang mengenai kulit tergantung pada jarak dari khatulistiwa, kelembaban, waktu tahun, ketinggian dan waktu setempat (Taufikkurohmah, 2005).

Tabir surya memiliki manfaat yaitu melindungi kulit. Perlindungan tersebut karena tabir surya dapat menyebarkan sinar matahari dengan menyerap energi terkena pada kulit, mencegah energi matahari mengenai kulit secara langsung. Senyawa dalam tabir surya memiliki ikatan yang dapat berikatan satu sama lain dan saat terkena sinar UV, ikatan tersebut cenderung beresonansi sehingga mengurangi energi yang dapat melindungi kulit (Lavi, 2013). Mekanisme kerja tabir surya menurut (Pratama dan Zulkarnain, 2015):

- a. Senyawa yang dapat menyerap atau memantulkan sinar UV. Tabir surya ini biasanya terdapat dalam sediaan topikal.
- b. Sinar UV dapat merangsang pembentukan beberapa radikal bebas pada kulit. Kemampuan antioksidan (menangkap radikal bebas) yang dimilikinya dapat bersaing dengan molekul target, sehingga mencegah berbagai efek berbahaya.

Mekanisme tabir surya lain dapat dibagi menjadi menyerap secara kimiawi dan memblokir tabir surya secara fisik. Mekanismenya yaitu menyerap sinar ultraviolet yang kemudian diubah menjadi energi kalor. Tabir surya yang mengandung penghambat fisik mengandung senyawa anorganik yang memantulkan atau menyebarkan sinar UV (Rai dan Srinivas, 2007). Penyerapan energi UV tersebut akan mengubahnya menjadi energi kalor, sehingga efek berbahaya dan penetrasi ke dalam kulit dapat dikurangi. Tabir surya organik bekerja terutama melalui mekanisme ini (Mania dkk., 2013). Tabir surya mineral (anorganik) biasanya bekerja terutama dengan mekanisme Hamburan, pantulan, dan penyerapan energi UV dari permukaan kulit. Mereka membentuk lapisan yang menghalangi sinar matahari menembus kulit (Geoffrey dkk., 2019).

12. Sun Protection Factor (SPF)

SPF (*Sun Protection Factor*) merupakan total energi sinar UV yang menimbulkan eritema dalam jumlah minimal (MED) pada kulit yang terlindung produk atau bahan tabir surya aktif dan total energi sinar UV yang diperlukan dalam menimbulkan MED pada kulit. Hal ini merupakan perbandingan jumlah produk energi atau perlindungan senyawa aktif (Susanti dkk., 2012). MED merupakan durasi minimum atau dosis radiasi UV minimum yang diperlukan untuk menyebabkan eritema (Wood dan Murphy, 2000).

Faktor perlindungan matahari dari tabir surya dapat diukur secara *in vitro*. Ada dua jenis utama metode pengukuran *in vitro* untuk nilai SPF. Jenis pertama adalah mengaplikasikan produk tabir surya ke pelat kuarsa atau membran biologis dan mengukur penyerapan atau transmisi sinar UV. Cara lain adalah menentukan sifat penyerapan tabir surya dengan analisis spektrofotometri larutan encer yang akan diujikan (Pratama dan Zulkarnain, 2015).

Tabel 2. Kategori Nilai Sun Protection factor (SPF) sediaan

Nilai	Keterangan
2 – 4	Minimal
4 – 6	Sedang
6 – 8	Ekstra
8 – 15	Maksimal
> 15	Ultra

(Draelos dan Thaman, 2006)

Nilai SPF adalah indikator yang menunjukkan kemampuan dari produk atau zat dengan sifat proteksi terhadap sinar UV (Suhaenah dkk., 2019). Klasifikasi dari nilai SPF suatu zat menurut Anderson (2011) (Tabel 3).

Tabel 3. Kategori Nilai Sun Protection factor (SPF) zat

Nilai	Keterangan
2 – 11	<i>Low</i>
12 – 29	<i>Medium</i>
30 – 50	<i>High</i>

13. Metode Penentuan Nilai SPF

13.1. Metode Mansur. Penentuan nilai SPF menggunakan metode Mansur dengan cara hasil absorbansi sampel pada panjang gelombang UV-B yaitu 320 – 290 nm dengan interval 5 nm dicatat dan dihitung nilai SPF dengan rumus pada persamaan 1:

$$SPF = CF + \sum_{290}^{320} EE \times I(\lambda) \times \text{abs}(\lambda) \quad (1)$$

Keterangan:

CF = Faktor Koreksi

EE = Spektrum Efek Eritema

I = Spektrum Intensitas Cahaya

Abs = Absorbansi Sampel Tabir Surya

EE X I merupakan Nilai Konstan ditunjukkan pada (tabel 4)

Tabel 4. Nilai EE x I

No	Panjang Gelombang (nm)	EE x I
1	290	0,0150
2	295	0,0817
3	300	0,2874
4	305	0,3278
5	310	0,1864
6	315	0,0839
7	320	0,0180
Total		1

13.2. Metode A.J petro yang telah di modifikasi (Kawira, 2005). Pembuatan kurva serapan uji dalam kuvet pada panjang gelombang 360 – 290 nm menggunakan blanko etanol 90%. Menghitung serapan rata – rata larutan uji dengan kadar baku 125 mg/l (As) dengan rumus:

$$As = \frac{125}{m} \times Ar \quad (2)$$

As : rata – rata serapan larutan uji dengan kadar baku 125 mg/l

Ar : penetapan serapan rata rata

m : berat sampel mg/l

Nilai SPF dihitung dengan rumus:

$$\text{Nilai SPF} = \text{antilog} (2 \times As) \quad (3)$$

Penetapan serapan rata-rata (Ar) dilakukan dengan cara sebagai berikut: diukur serapan larutan uji antara panjang gelombang 360-290 nm dengan interval 2,5 nm. Sinar pada panjang gelombang 340 nm memiliki efektivitas yang tinggi menyebabkan warna coklat pada kulit tanpa adanya kemerahan.

Ar dihitung dengan rumus :

$$Ar = \frac{[1,25 (A_{290} + A_{360}) + 2,5(A_{292,5} + A_{295} + \dots + A_{360})]}{70} \dots \quad (4)$$

13.3. Menghitung luas area di bawah kurva serapan (AUC).

Nilai *Sun Protection factor* (SPF) dihitung dengan terlebih dahulu menghitung luas daerah di bawah kurva serapan (AUC) dari nilai serapan pada panjang gelombang 400–290 nm dengan interval 1 nm. Nilai AUC dihitung dengan menggunakan persamaan.

$$AUC = \frac{Aa+Ab}{2} \times dPa - b \quad (5)$$

Keterangan :

Aa : Absorbansi pada panjang gelombang a nm

Ab : Absorbansi pada panjang gelombang b nm

dPa – b: Selisih panjang gelombang a dan b

Nilai total AUC dihitung dengan menjumlahkan semua nilai AUC pada tiap interval 1 nm panjang gelombang. Nilai SPF masing – masing konsentrasi ditentukan dengan menggunakan persamaan.

$$\text{Log SPF} = \frac{AUC}{\lambda_n - \lambda_1} \quad (6)$$

(Rauf dkk., 2017)

Keterangan :

AUC : Area di bawah kurva

λ_n : Panjang gelombang terbesar (400 nm dengan nilai $A > 0,05$ untuk ekstrak)

λ_1 : Panjang gelombang terkecil (290 nm)

Nilai log SPF dihitung dengan membagi jumlah seluruh area di bawah kurva (AUC) dengan selisih panjang gelombang terbesar dan terkecil.

14. Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis merupakan suatu teknik spektroskopi yang menggunakan sumber radiasi elektromagnetik UV pendek (380–190 nm) dan tampak (780–380 nm) dalam instrumen spektrofotometer (Helwandi, 2016). Prinsip spektrofotometri UV-tampak adalah suatu cahaya dari sumber cahaya dipisahkan oleh prisma menjadi cahaya monokromatik yang diserap oleh zat yang diselidiki. Cahaya monokromatik adalah cahaya satu warna dengan satu panjang gelombang (Underwood dan Day, 2002).

Spektrofotometri UV-Vis umumnya digunakan untuk molekul dan ion anorganik atau kompleks dalam larutan. Spektrum ini digunakan untuk penetapan kuantitatif. Konsentrasi sampel dalam larutan dapat ditentukan dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang tertentu menggunakan hukum Beer-Lambert. Panjang gelombang sinar ultraviolet adalah 400-200 nm dan panjang gelombang cahaya tampak adalah 800-400 nm. Ketika sebuah atom atau molekul menyerap cahaya, energinya membangkitkan elektron di kulit terluarnya ke tingkat energi yang lebih tinggi. Macam - macam eksitasi tergantung pada panjang gelombang cahaya yang diserap. Ultraviolet dan cahaya tampak membangkitkan elektron ke orbital yang lebih tinggi. Sistem yang menyerap cahaya disebut kromofor (Dachriyanus, 2004). Kromofor adalah semua gugus atau atom dalam senyawa organik yang mampu menyerap sinar ultraviolet dan sinar tampak (Rohman, 2007 dalam Pratama dan Zulkarnain, 2015).

B. Landasan Teori

Sinar ultraviolet yang terdiri dari UV-A dengan panjang gelombang 400-320 nm dapat menembus dermis dan menyebabkan masalah pigmentasi. UV-B memiliki panjang gelombang 290 hingga 320 nm dan menembus hingga lapisan terluar kulit dan epidermis, sehingga memiliki efek langsung seperti kemerahan dan eritema. Sinar UV dapat menyebabkan kerusakan kulit seperti elastisitas kulit menjadi berkurang, keriput, kendur dan kanker pada kulit (Rizki dkk., 2021). Radiasi sinar ultraviolet menyebabkan kerusakan kulit apabila terpapar terlalu lama, hal tersebut terkait dengan adanya radikal bebas, sehingga diperlukan suatu senyawa atau bahan aktif yang dapat melindungi kulit dari paparan sinar UV. Efek negatif sinar matahari dapat dikurangi dengan adanya komponen senyawa yang mampu melindungi kulit dari radiasi sinar ultraviolet yang berlebihan, yang disebut tabir surya (Setiabudi, 2008 dalam Sukma, 2018).

Tabir surya mampu melindungi kulit dengan menyebarkan atau menyerap energi sinar matahari yang sampai pada kulit dan mencegah energi sinar matahari mengenai kulit secara langsung. Senyawa dalam tabir surya memiliki ikatan yang dapat berikatan satu sama lain dan saat terkena sinar UV, ikatan tersebut cenderung beresonansi sehingga mengurangi energi yang dapat melindungi kulit (Lavi, 2013). Senyawa

yang dapat digunakan sebagai tabir surya alami yaitu flavonoid dan fenolik.

Tanaman yang mengandung flavonoid dan fenolik salah satunya adalah daun pecut kuda. Penelitian Septiani (2016) tentang kadar flavonoid total ekstrak daun pecut kuda sebesar 11,0533 mg/g ekstrak. Rahmawati (2012) menjelaskan senyawa flavonoid juga memiliki potensi sebagai tabir surya karena mempunyai gugus kromofor yang mampu menyerap sinar UV-A maupun UV-B sehingga mengurangi intensitas terhadap kulit. Menurut penelitian Utomo dkk, (2020) kadar total fenolik daun pecut kuda sebesar 8,74 mg/L. Senyawa fenolik yang terdapat dalam tanaman berguna untuk melindungi tumbuhan dari berbagai kerusakan yang disebabkan oleh cahaya matahari. Senyawa mempunyai potensi sebagai tabir surya karena adanya gugus kromofor yang mampu menyerap sinar UV sehingga mengurangi intensitasnya pada kulit yaitu senyawa flavonoid (Halliwell dan Gutteridge 1999).

Prinsip dari fraksinasi yaitu suatu proses penghilangan atau penarikan senyawa dari ekstrak yang menggunakan dua jenis pelarut yang berbeda kepolarannya. Jenis pelarut yang banyak digunakan pada proses fraksinasi yaitu *n*-heksan dan etil asetat (Mutiasari, 2012). Fraksi etil asetat daun pecut kuda memiliki kandungan flavonoid sebesar 36,44% dan fenolik sebesar 7,34%. Fraksi etil asetat daun pecut kuda memiliki aktivitas penangkal radikal DPPH yang tinggi dengan nilai IC₅₀ sebesar 2,99 (Indriani, 2018). Aktivitas antioksidan dan tabir surya didapatkan nilai yang saling hubungan jika semakin tinggi aktivitas antioksidan maka semakin tinggi nilai SPF yang diperoleh (Alhabsyi dkk., 2014).

Rahmawati (2012) menjelaskan senyawa yang dapat digunakan sebagai tabir surya adalah flavonoid. Hal ini karena adanya gugus kromofor (ikatan rangkap tunggal terkonjugasi). Gugus kromofor tersebut menyebabkan UV-A dan UV-B terserap sehingga kekuatan sinar terhadap kulit berkurang. Panjang gelombang maksimum dari senyawa flavonoid yaitu 385-250 nm. Kadar fenolik total ekstrak daun pecut kuda sebesar 8,74 mg/L. Panjang gelombang senyawa fenolik yaitu 260-260 nm (Utomo dkk., 2020).

SPF merupakan besarnya energi ultraviolet yang dibutuhkan untuk menyebabkan dosis eritema minimum (MED) pada kulit yang dilindungi oleh produk tabir surya atau bahan aktif dibandingkan dengan jumlah energi yang dibutuhkan untuk menyebabkan MED tanpa produk

atau bahan aktif tabir surya (Susanti dkk., 2012). MED merupakan waktu tercepat dari radiasi sinar UV yang diperlukan untuk menyebabkan terjadinya eritema (Wood dan Murphy, 2000).

C. Hipotesis

Pertama, ekstrak dan fraksi daun pecut kuda (*Stachytarpheta jamaicensis* L.Vahl) mempunyai kadar flavonoid total dan fenolik total tertinggi pada fraksi etil asetat.

Kedua, ekstrak dan fraksi daun pecut kuda (*Stachytarpheta jamaicensis* L.Vahl) mempunyai aktivitas sebagai tabir surya dan nilai SPF tertinggi terdapat pada fraksi etil asetat.

Ketiga, ekstrak dan fraksi daun pecut kuda (*Stachytarpheta jamaicensis* L.Vahl) mempunyai perlindungan yang lebih baik terhadap UV B.